

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**E.A.P. DE GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA**

**Diagnóstico molecular de pacientes con retraso mental  
idiopático usando la técnica *Multiplex Ligation Probe  
Amplification* (MLPA)**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Bióloga Genetista  
Biotecnóloga

**AUTOR**

Francia del Pilar Huamán Dianderas

**ASESORES**

Margarita Velásquez Reinoso

María Luisa Guevara Gil

Lima - Perú

2016



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
GENÉTICA Y BIOTECNOLOGÍA

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE PACIENTES CON  
RETRASO MENTAL IDIOPÁTICO USANDO LA TÉCNICA

*Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA)*

Tesis para optar al Título Profesional de Bióloga Genetista

Biotechnóloga

Bach. FRANCIA DEL PILAR HUAMAN DIANDERAS

ASESOR INTERNO

Biol. Margarita Velásquez Reinoso

ASESOR EXTERNO

Dra. María Luisa Guevara Gil

Lima – Perú

2016

### **DEDICATORIA**

A mi mamá, la mejor mamá del mundo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la doctora María Luisa Guevara Gil asesora externa de la tesis por su gran apoyo, enseñanzas y la confianza que ha depositado en mí brindándome la posibilidad de trabajar a su lado y aprender de ella.

Al doctor Ricardo Fujita Alarcón director del Centro de Genética y Biología Molecular por brindarme la oportunidad de desarrollarme como profesional junto a un grupo tan selecto de profesionales.

Al Instituto de investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres por abrirme sus puertas y permitirme trabajar en este.

Al doctor Alejandro Estrada a quien tuve la suerte de conocer en el 2013 por ser la persona que me capacitó en la realización de la técnica del MLPA.

A la profesora Margarita Velásquez asesora interna de esta tesis y al profesor Jaime Descailleaux por abrirme las puertas del Laboratorio de Genética Humana de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM desde que era estudiante de pregrado, gracias a ellos por estimular mi inclinación hacia la genética humana y por iniciar mi formación profesional.

A las doctoras Milagros Dueñas, Ruth Yabar y Ana Protzel miembros del Servicio de Genética - Departamento de Especialidades Médicas. Hospital Edgardo Rebagliati Martins - EsSalud por su colaboración.

A mis padres que siempre me inculcaron el interés por la ciencia por apoyarme durante toda mi formación, en especial a mi madre por siempre estar ahí a cualquier hora y en cualquier lugar.

Y nuevamente a la doctora María Luisa Guevara y al doctor Ricardo Fujita por ser como unos segundos padres y brindarme ayuda y consejos no sólo a nivel profesional sino también en el día a día, excelentes personas, muchas gracias.



## **ABREVIATURAS**

AAIDD	Asociación Americana de Discapacidad Intelectual
APA	Asociación Americana de Psiquiatría
CAS	Puntaje del Análisis del Coffalyser
CGBM	Centro de Genética y Biología Molecular
CGH	Hibridación Genómica Comparada
CI	Coeficiente intelectual
CIE-10	Clasificación Internacional de Enfermedades
DQ	Relación de Fluorescencia
DSM-V	Manual de Diagnóstico y Estadísticas de Desórdenes Mentales
ECM	Errores Congénitos del Metabolismo
FISH	Hibridación In Situ Fluorescente
FMRS	Puntaje de los Fragmentos de Reacción MLPA
GIRMOGEN	Grupo de Investigación en Retraso Mental de Origen Genético
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
MLPA-MS	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification – Methylation Specific
MRC-Holland	Microbiology Research Centre Holland
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas
RM	Retraso Mental
RMLX	Retraso Mental Ligado a X
RMS	Retraso Mental Ligado a X Sindrómico
RMX	Retraso Mental Ligado a X No Sindrómico o Inespecífico
SKY	Cariotipo Espectral

## ÍNDICE

	<i>Páginas</i>
1. Introducción	1
2. Marco teórico	3
2.1. Retraso Mental	4
2.1.1. RM ligero	4
2.1.2. RM moderado	4
2.1.3. RM severo	4
2.1.4. RM profundo	5
2.2. Consideraciones Legales	5
2.3. Epidemiología y Etiología del RM	6
2.4. Causas Genéticas	7
2.4.1. Alteraciones Cromosómicas	7
2.4.2. Síndromes con Microdelección/Microduplicación	8
2.4.3. Alteraciones Subteloméricas	8
2.4.4. Retraso Mental Autosómico Dominante	9
2.4.5. Retraso Mental Autosómico Recesivo	9
2.4.6. Retraso Mental Ligado al X	10
2.5. Diagnóstico Genético del RM	12
2.5.1. Cariotipo	12
2.5.2. Hibridación <i>in situ</i> Fluorescente (FISH)	13
2.5.3. Hibridación Genómica Comparada (CGH)	14
2.5.4. Amplificación Múltiple dependiente de Ligación con Sondas (MLPA)	15

2.5.5. Amplificación Múltiple dependiente de Ligación con Sondas – Metilación Específica (MLPA-MS)	17
2.6. Diagnóstico de RM de origen genético. Protocolo de estudio propuesto por el grupo de Investigación en Retraso Mental de Origen Genético, (GIRMOGEN)	18
3. Hipótesis	20
4. Objetivos	20
4.1. Objetivo General	20
4.2. Objetivos Específicos	20
5. Materiales y Métodos	21
5.1. Materiales	21
5.1.1. Lugar de ejecución	21
5.1.2. Material biológico	21
5.1.3. Materiales de laboratorio	21
5.1.3.1. Equipos	21
5.1.3.2. Reactivos	22
5.1.3.3. Material de Plástico	22
5.2. Métodos	23
5.2.1. Extracción de ADN	24
5.2.2. Técnica del MLPA	25
5.2.3. Electroforesis capilar	27
5.2.4. Análisis de datos	27
6. Resultados	28
6.1. Descripción de la Población en	28
6.2. Despistaje de las Diferentes Causas Genéticas siguiendo el Esquema de la Metodología	33

6.2.1. Despistaje del Síndrome de X-frágil	33
6.2.2. Despistaje de Alteraciones Subteloméricas	35
6.2.3. Despistaje de Síndromes Conocidos Causados por Microdeleciones/Microduplicaciones	52
6.2.4. Despistaje de Síndromes Ligados al Cromosoma X	55
7. Discusión	56
7.1. Despistaje del Síndrome de X-frágil	56
7.2. Despistaje de Alteraciones Subteloméricas	57
7.3. Despistaje de Síndromes Conocidos Causados por Microdeleciones/Microduplicaciones	60
7.4. Despistaje de Síndromes Ligados al Cromosoma X	61
7.5. Capacidad de detección de mutaciones por medio de la técnica MLPA, según los pasos propuestos por GIRMOGEN 2012	62
8. Conclusiones	63
9. Referencias Bibliográficas	64

## LISTA DE FIGURAS

	<i>Páginas</i>
<b>Figura 1:</b> Esquematización del proceso del MLPA.	15
<b>Figura 2:</b> Esquematización del proceso del MLPA-MS.	17
<b>Figura 3:</b> Algoritmo diagnóstico genético para RM.	19
<b>Figura 4:</b> Esquema que muestra el camino que siguieron las muestras hasta obtener un diagnóstico.	23
<b>Figura 5:</b> Distribución del total de pacientes analizados.	31
<b>Figura 6:</b> Distribución de los pacientes con diagnóstico primario.	31
<b>Figura 7:</b> Distribución de los pacientes con RM idiopático	33
<b>Figura 8:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas ME029	34
<b>Figura 9:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM51	36
<b>Figura 10:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM51	37
<b>Figura 11:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P230 para RM51	38
<b>Figura 12:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P286 para RM51	39
<b>Figura 13:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM64	41
<b>Figura 14:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM64	42
<b>Figura 15:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P286 para RM64	43
<b>Figura 16:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM67	45
<b>Figura 17:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM67	46

<b>Figura 18:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P230 para RM67	47
<b>Figura 19:</b> Cariotipo del paciente RM79	48
<b>Figura 20:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM79	49
<b>Figura 21:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM79	50
<b>Figura 22:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas ME028 para RM79	51
<b>Figura 23:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P245 para RM77	53
<b>Figura 24:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P064 para RM77	54
<b>Figura 25:</b> Diagrama de resultado obtenido con el mix de sondas P106	55

## LISTA DE TABLAS

	<i>Páginas</i>
<b>Tabla 1:</b> Clasificación del retardo mental.	3
<b>Tabla 2:</b> Clasificación de las diferentes causas de RM y frecuencia de las mismas.	7
<b>Tabla 3:</b> Relación de síndromes asociados a RM que presentan microdelección/microduplicación.	8
<b>Tabla 4:</b> Relación de genes asociados al RMLX.	12
<b>Tabla 5:</b> Correspondencia del genotipo según el número de copias presente vs. el índice asignado.	16
<b>Tabla 6:</b> Relación de los mix de sondas utilizadas y las alteraciones detectables.	25
<b>Tabla 7:</b> Resumen de la metodología empleada para MLPA.	26
<b>Tabla 8:</b> Resumen de la metodología empleada para MLPA-MS.	26
<b>Tabla 9:</b> Lista del total de pacientes.	28
<b>Tabla 10:</b> Lista del total de pacientes con RM idiopático analizados.	32

## RESUMEN

El retraso mental (RM) es un problema de índole médico, social y económico presente en todos los países del mundo. En occidente ha estado cobrando cada vez mayor importancia, aunque en nuestro país en particular no existen datos acerca de la prevalencia de estos casos ni mucho menos las frecuencias de las diferentes causas. Sin embargo, se sabe, a nivel global, que aproximadamente el 50% de los casos quedan considerados como idiopáticos, por lo que diversas entidades proponen estudios con el objetivo de descifrar estos casos. Una de estas entidades es el Grupo de Investigación en Retraso Mental de Origen Genético (GIRMOGEN), entidad española que propone un protocolo de estudio para el despistaje del RM idiopático. En el presente trabajo se sugirió una serie de pasos a seguir para el diagnóstico del RM idiopático mediante la técnica *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA), basado en el protocolo antes mencionado. Previo consentimiento informado (aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad San Martín de Porres), se obtuvieron muestras de 50 pacientes provenientes del Servicio de Genética - Departamento de Especialidades Médicas. Hospital Edgardo Rebagliati Martins - EsSalud. Primero se analizaron los pacientes para descarte del diagnóstico primario, para finalmente contar con un grupo de 30 casos con RM idiopático. Se realizó la prueba del MLPA tal como lo indica el *Microbiology Research Centre Holland* (MRC-Holland), y se analizó los datos mediante el programa de libre acceso Coffalyser. Los resultados indican que la mayoría de los casos solucionados (4 casos) se deben a alteraciones subteloméricas o pericentroméricas y un solo caso resultó en un síndrome de microdelección conocido. Además, no se encontraron otro tipo de variaciones esperadas en una población como esta. Este trabajo entonces indica que, para esta muestra, los pasos a seguir propuestos para el diagnóstico molecular de pacientes con RM idiopático no son los correctos, pero por otro lado el uso de la técnica del MLPA es útil como un método diagnóstico en la búsqueda de alteraciones en el genoma del tipo delección o duplicación.



## **SUMMARY**

Mental Retardation (MR) is a worldwide problem of economic, social and medical nature. In our society its importance is increasing, but in our country we do not have incidence data or frequencies of the different diseases that produce MR. At a global level, there are approximately 50% of cases which are considered idiopathic. Several entities have considered making different types of studies to deal with the problem. One of this is GIRMOGEN, a Spanish agency that proposed a study protocol to screen idiopathic MR. In this work, a series of steps for the screening of these cases using the MLPA technique is proposed. We obtained blood samples from 50 patients diagnosed with idiopathic MR from different hospitals such as Servicio de Genética –Departamento de Especialidades Médicas del Hospital Edgardo Rebagliati Martins-EsSalud with an informed consent form approved by the Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad San Martín de Porres signed by their parents. Patients were separated into two groups. One of the groups had a primary diagnosis and on the other group, 30 patients were considered as having idiopathic MR. DNA from all samples was extracted. The MLPA technique as indicated by MRC-Holland was performed, and data were analyzed using the Coffalyzer software. Results show that the group of cases where a final diagnosis was reached (four cases) are due to subtelomeric or pericentromeric mutations. Another case was diagnosed as a known syndrome produced by a microdeletion. No other variations were detected in the population studied.

This work shows that for this sample, steps proposed for the screening of idiopathic MR are not appropriate, but these samples validate the use of MLPA as an effective method to look for genomic alterations of deletion and duplication type.

## 1. INTRODUCCIÓN

El retraso mental (RM), es una discapacidad caracterizada por limitaciones significativas en el funcionamiento intelectual y en la conducta adaptativa. Es ampliamente estudiado debido al impacto que tiene en la sociedad, al número de casos que acuden a consulta y al mayor interés que la medicina pone sobre el individuo con este tipo de discapacidad. Dentro de la gama de causas posibles, las más comunes son, anomalías cromosómicas, anomalías del sistema nervioso central, factores ambientales, condiciones de prematuridad, síndromes reconocibles y enfermedades metabólicas. Sin embargo, se desconoce la causa del mismo en el 50% de los casos (Ramos-Fuentes. 2006), lo que no permite asumir criterios para el manejo del paciente. Por ello, es imprescindible un diagnóstico temprano y adecuado para mejorar el pronóstico del paciente, proponer terapias y/o tratamientos y brindar asesoría genética reproductiva si la pareja desea tener más hijos. Además, el individuo con RM requiere mejorar su calidad de vida y recibir el apoyo al que tiene derecho, con lo que se demuestra también la importancia social y económica que ello significa.

Actualmente en el Perú, los diagnósticos abarcan un examen físico, dismorfológico y neurológico, y además esta evaluación se apoya en pruebas citogenéticas y estudios moleculares como, hibridación *in situ* (FISH), pruebas metabólicas básicas y algunos estudios moleculares para síndromes ya conocidos, como por ejemplo PCR para el gen *FMR1* para la confirmación del síndrome del X-frágil (Ministerio de Salud. 2012). En términos de diagnóstico molecular, se evalúan los síndromes más conocidos y frecuentes, pero a menudo esto resulta en diagnósticos trancos que no dan más información sobre las posibles causas de la patología en el paciente. Su condición tan heterogénea es la que hace que el diagnóstico en sí sea complicado. Además, dentro del grupo de pacientes diagnosticados con RM idiopático, la mayoría parece corresponder a pequeñas alteraciones submicroscópicas que no son detectables por las técnicas usualmente empleadas en nuestro país.

La técnica *multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) surge como un método efectivo en el reconocimiento de varias de estas mutaciones submicroscópicas, lo que representa un avance significativo en este campo. Esto se logra debido a la combinación de sondas que se hibridan en lugares específicos del genoma y permiten el diagnóstico de alteraciones hasta con un 99.9% de confiabilidad, otorgándole a la técnica valor diagnóstico. El objetivo de este trabajo es detectar las mutaciones causantes de RM idiopático síndrómico o no síndrómico en diferentes genes, por medio de la técnica MLPA, en pacientes del Servicio de Genética - Departamento de Especialidades Médicas. Hospital Edgardo Rebagliati Martins - EsSalud.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Retraso mental

Existen muchos conceptos sobre qué es considerado retraso mental (RM). Según la Asociación Americana de Discapacidad Intelectual (AAIDD) (Schalock et al. 2010), es una discapacidad antes de los 18 años, caracterizada por limitaciones significativas intelectuales y de conducta adaptativa, manifestándose en habilidades prácticas, sociales y cognitivas diferentes. Afecta aproximadamente al 2-3% de la población (Leonard et al. 2002).

Aunque las principales clasificaciones de enfermedades (Clasificación internacional de enfermedades (CIE-10) y el Manual de Diagnóstico y Estadísticas de Desórdenes Mentales (DSM-5)) utilizan todavía el término RM, desde todos los ámbitos y siguiendo la corriente norteamericana, se ha optado por utilizar la nueva denominación de discapacidad intelectual cuyo significado es totalmente equivalente al del RM. No obstante, en este trabajo por cuestiones de entendimiento se referirá como RM.

Tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS, CIE-10) como la Asociación Americana de Psiquiatría (APA, DSM-IV) proponen una clasificación, bastante similar, del RM en ligero, moderado, grave y profundo básicamente en función del coeficiente intelectual (CI) (Tabla1), Aclarándose que se menciona DSM-IV ya que es esta edición usa el CI para especificar el grado de retraso mental a pesar de que se ha actualizado en la DSM-5 que más se fundamenta en el funcionamiento adaptativo del paciente.

**Tabla 1:** Clasificación del retraso mental. Modificado de: Asociación Americana de Psiquiatría (APA), 1994, y Organización Mundial de la Salud (OMS).

<b>Tipo de Retraso Mental</b>	<b>CI, según DSM-IV</b>	<b>CI, según CIE-10</b>	<b>Porcentaje en la población con Retraso Mental</b>
Ligero	Entre 50-55 y 70	Entre 50-69	85%
Moderado	Entre 35-40 y 50-55	Entre 35-49	10%
Grave	Entre 20-25 y 35-40	Entre 20-34	3-4%
Profundo	Inferior a 20-25	Inferior a 20	1-2%

### **2.1.1. RM ligero**

Es el grupo más frecuente (85% de los casos). Desarrollan habilidades sociales y de comunicación durante los años preescolares (0-5 años de edad), tienen insuficiencias mínimas en las áreas sensoriales o motoras y con frecuencia no son distinguibles de otros niños sin RM hasta edades posteriores.

Las principales dificultades generalmente se observan en el trabajo académico, ya que muchos tienen problemas particulares en la lectura y la escritura, pero la mayoría logra la capacidad de utilizar el lenguaje para el día a día, mantener conversaciones, y participar en la entrevista clínica. Tienen independencia en el cuidado personal (comer, lavarse, vestirse, control de esfínteres) y en habilidades prácticas y racionales. (DSM-5. 2013)

### **2.1.2. RM moderado**

Este grupo constituye alrededor del 10 % de toda la población con RM, son personas lentas en el desarrollo de la comprensión y el uso del lenguaje. Adquieren habilidades de comunicación durante los primeros años de la niñez. Los avances en el trabajo escolar son limitados, aunque cierto porcentaje aprende las habilidades básicas necesarias (lectura, escritura, y conteo).

El logro de autocuidado y habilidades motoras también se dificultan en estas personas, llegando algunos a necesitar supervisión durante toda su vida. Como adultos pueden realizar trabajos prácticos sencillos, si las tareas están cuidadosamente estructuradas y la supervisión calificada es proporcionada. (DSM-5. 2013)

### **2.1.3. RM severo**

Conformado por aproximadamente el 3-4% de la población con RM, la mayoría de las personas en esta categoría sufren de un notable grado de deterioro motor o de otro tipo de déficit relacionado, indicando la presencia de daño clínicamente significativo o trastornos del desarrollo del sistema nervioso central.

Durante los primeros años de la niñez adquieren un lenguaje comunicativo escaso o nulo. Durante la edad escolar pueden aprender a hablar y pueden ser adiestrados en habilidades elementales de cuidado personal. Los adultos pueden ser capaces de realizar tareas simples estrechamente supervisadas en instituciones. En su mayoría se adaptan bien a la vida en la comunidad a no ser que sufran alguna discapacidad asociada que requiera cuidados especializados o cualquier otro tipo de asistencia. (DSM-5. 2013)

#### **2.1.4. RM profundo**

Incluye aproximadamente el 1-2 % de las personas con retraso mental. La mayoría de los individuos con este diagnóstico presentan una enfermedad neurológica identificada que explica su retraso mental.

Durante los primeros años desarrollan considerables alteraciones del funcionamiento sensorial motor. Las personas afectadas son muy limitadas en su capacidad para comprender o cumplir con las peticiones o instrucciones. La mayoría de estas personas no tienen movilidad o está muy restringida, tienen incontinencia, y su comunicación es no verbal y rudimentaria. Poseen poca o ninguna capacidad para atender sus propias necesidades básicas, y requieren ayuda y supervisión constante. Puede predecirse un desarrollo óptimo en un ambiente altamente estructurado con ayudas y supervisión constantes. (DSM-5. 2013)

### **2.2. Consideraciones legales**

En 1971 la Asamblea General de las Naciones Unidas promulgó la Declaración de los “Derechos Generales y Específicos de los Mentalmente Retardados” haciendo que muchos países miembros redactaran leyes para la protección y la inclusión social de los discapacitados mentales.

En 1989, la Organización de las Naciones Unidas (ONU) proclama la Convención sobre los Derechos del Niño que en su artículo 23 dispone que los niños con impedimento físico y mental deben tener derecho a acceder a cuidados y atención especial en salud

para alcanzar una vida plena y digna. Además, los artículos 24 y 28 reafirman el derecho a la atención en salud y el derecho al tratamiento, la rehabilitación y el cuidado especial, la seguridad social, y un nivel de vida adecuado para su desarrollo físico, mental y espiritual, moral, social y educacional.

Otras Convenciones Internacionales llevadas a cabo por la Organización de Estados Americanos (OEA), como la Convención Interamericana para la eliminación de todas las formas de discriminación contra las personas con discapacidad, aprobada el 7 de junio de 1999, propicia la plena integración del individuo en cuestión a la sociedad, además de darle prioridad a acciones de prevención y detección temprana. Esta Convención para el Perú fue aprobada mediante Resolución Legislativa N° 27484 el 15 de junio del 2001.

En el Perú, en el año 2012, el Congreso de la República aprobó la Ley N°29973 (Ley General de la Persona con Discapacidad) que promulga que “la persona con discapacidad tiene los mismos derechos que el resto de la población, sin perjuicio de las medidas nacionales e internacionales para que alcance la igualdad de derecho”. Esta ley en el Capítulo IV (Salud y Rehabilitación), artículos 32, 33 y 34, hace referencia al derecho a la prevención, medicamentos, tecnologías de apoyo, dispositivos, ayuda compensatoria y ayuda a la investigación.

### **2.3. Epidemiología y Etiología del RM**

El RM puede ser causado por múltiples factores, que pueden ser endógenos como enfermedades causadas por mutaciones monogénicas o mutaciones en múltiples genes, también por anomalías cromosómicas de diferentes tipos como deleciones, duplicaciones, inversiones u otros reordenamientos; por otro lado las causas también pueden ser ambientales incluyendo infecciones, exposición a teratógenos en la gestación, malnutrición materna durante la gestación o en la infancia, problemas obstétricos o daño cerebral entre otros (Chiurazzi y Oostra. 2000).

Las causas genéticas representan aproximadamente el 50% de los casos y cerca de un 10 a 15% de estas se relacionan con mutágenos ambientales. Sin embargo, la génesis en un 30-50 % de los casos es aún desconocida (Chiurazzi y Oostra. 2000). (Tabla 2)

**Tabla 2:** Clasificación de las diferentes causas de RM y frecuencia de las mismas. Fuente: GIRMOGEN 2012.

<b>Causas de RM</b>	<b>Porcentajes</b>
Anomalías cromosómicas	4-28%
Anomalías estructurales del sistema nervioso central	7-17%
Teratógenos ambientales	5-13%
Retraso mental familiar/cultural	3-12%
Complicaciones de prematuridad	2-10%
Enfermedades monogénicas conocidas	3-9%
Síndromes reconocibles	3-7%
Enfermedades metabólicas/endocrinas	2-5%
Desconocidas	30-50%

## 2.4. Causas Genéticas

### 2.4.1. Alteraciones Cromosómicas

Las alteraciones cromosómicas representan el 40% de los casos en pacientes con RM grave y un 10% de los casos con RM leve. Estas anomalías pueden ser, entre otras, pérdida o ganancia de cromosomas completos (aneuploidias), pérdida o ganancia de fragmentos cromosómicos (deleción, duplicación o inserción), o intercambio de fragmentos de un cromosoma con otro (translocación) de forma desequilibrada. Estas anomalías se evidencian usando técnicas de citogenética convencional y también cariotipos de alta resolución (Syngelaki et al. 2014).

La trisomía 21 (síndrome de Down) es la causa más frecuente de RM, aunque la prevalencia de dicho síndrome se está viendo disminuido con los años, esto debido básicamente a dos factores, la detección prenatal temprana y la legalidad de los abortos inducidos en algunos países europeos y de Norteamérica. Otras causas con menor frecuencia son la trisomía 13 (síndrome de Patau) y la trisomía 18 (síndrome de Edwards) (Syngelaki et al. 2014).



#### 2.4.2. Síndromes con microdelección/microduplicación

Muchos de los síndromes típicos están causados por deleciones, y más raramente por duplicaciones submicroscópicas que en general involucran a una misma región de tamaño variable dentro del cromosoma. Recientemente, se ha visto que para un fenotipo determinado, la zona delecionada involucra siempre uno o dos genes concretos, pero la expresión clínica será más o menos grave en función de cuantos más genes adyacentes estén implicados (enfermedad de genes contiguos) (Guitart-Feliubadaló et al. 2006).

Los pacientes con microdeleciones tienden a presentar un retraso del desarrollo que varía desde ligero hasta grave y un fenotipo conductual característico, además de múltiples anomalías físicas. Las microduplicaciones tienen en general un espectro clínico más variable y benigno (Guitart-Feliubadaló et al. 2006). Algunos síndromes con microdelección o microduplicación asociados a RM se recogen en la Tabla 3.

**Tabla 3:** Relación de síndromes asociados a RM que presentan microdelección. Fuente: GIRMOGEN 2012.

Síndromes	Anomalía	Gen	Detección por FISH	Prevalencia
Wolf-Hirschhorn	del 4p16.3	<i>WHSCR</i>	>95%	1/50.000
Maullido de gato	del 5p15.2	<i>TERT</i>	-	1/20.000-50.000
Sotos	del 5q35.3	<i>NSD1</i>	10%	1/14.000
Williams	del 7q11.23	<i>ELN</i>	90-95%	1/7.500-20.000
Prader-Willi	del 15q11.2-13	<i>SNRPN</i> <i>GABRB3</i>	70-75%	1/10.000-25.000
Angelman Smith-Magenis	del 15q11.2-3	<i>UBE3A</i>	70-75%	1/12.000-20.000
DiGeorge/velocardiofacial	del 17p11.2	<i>RAI1</i>	>90%	1/15.000-25000
	del 22q11.2	<i>TBX1</i>	90%	1/6.000

#### 2.4.3. Alteraciones subteloméricas

Casi todas las regiones subteloméricas contienen una elevada concentración de genes y son regiones además muy propensas a sufrir recombinaciones por el gran parecido de las secuencias que aquí se presentan (Koolen et al. 2004 y Rooms et al. 2004). Sobre la frecuencia con la que se encuentran este tipo de alteraciones la bibliografía es muy heterogénea, dependiendo del lugar de procedencia de las muestras, pero en general el porcentaje de duplicaciones o deleciones subteloméricas de los casos con RM

idiopático está entre un 3% (Ravnan et al. 2005) y un 18% (Northrop et al. 2005), siendo las deleciones las más frecuentes (Koolen et al. 2004).

El estudio para la detección de deleciones y duplicaciones subteloméricas está indicado sobre todo cuando hay una historia familiar positiva, retraso de crecimiento prenatal, alteraciones en el crecimiento postnatal, dos o más rasgos dismórficos faciales y uno o más defectos congénitos no faciales, siendo la microcefalia la anomalía más constante (Koolen et al. 2004).

Un gran porcentaje de las anomalías subteloméricas, alrededor del 50%, son heredadas. Entre ellas, la mayoría corresponde a cromosomas derivados de una traslocación equilibrada parental, y en un grupo más reducido se encuentran las deleciones y las duplicaciones aisladas (Koolen et al. 2004).

#### **2.4.4. Retraso mental autosómico dominante**

Diversos estudios de investigación encontraron relaciones entre el RM de origen génico y la presencia de mutaciones en genes que intervienen en la vía intracelular que media en la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria (Sánchez-Díaz et al. 2006).

Algunos genes son responsables de alterar el flujo de la información que va de la membrana hasta el núcleo, como son los casos de los genes *NF1* y *TSC2*, y el gen *DMPK*, necesario para la integración de la señal externa al interior de la célula. Estos tres genes están implicados en la neurofibromatosis tipo 1, la esclerosis tuberosa y la distrofia miotónica tipo I o de Steinert, respectivamente, enfermedades monogénicas que, entre su sintomatología, pueden presentar diferentes formas de RM (Weeber et al. 2002). Estos síndromes presentan una herencia de tipo autosómica dominante y por lo tanto, un individuo afectado, tiene un riesgo del 50% de tener descendencia afectada.

#### **2.4.5. Retraso mental autosómico recesivo**

Se presentan en individuos que son homocigotos para una mutación, o heterocigotos compuestos, que presentan dos mutaciones diferentes en un mismo gen.

Los heterocigotos, en general, son portadores no afectados, la posibilidad teórica de que dos portadores tengan un hijo afectado es del 25%, sin embargo, son un origen importante de deficiencias mentales. Un ejemplo son los errores congénitos del metabolismo (ECM) (Campistol et al. 2005).

Estos ECM se pueden clasificar según sea el metabolismo alterado: purinas, pirimidinas, aminoácidos, etc. Entre estas alteraciones que afectan al metabolismo de los aminoácidos, es especialmente relevante el caso de la fenilcetonuria por mutaciones en el gen de fenilalanina hidroxilasa (gen implicado *PAH*). Supone un 0,5-1% de las enfermedades mentales, y aparece con una frecuencia de 1/11.500-1/14.000 en recién nacidos vivos. Su diagnóstico precoz con los programas de cribado neonatal permite instaurar la administración de una dieta alimenticia carente de fenilalanina y evitar el retraso mental (Campistol et al. 2005).

Dentro de los trastornos lisosomales por depósito de gangliósidos, se encuentra la enfermedad de Tay-Sachs, que es rara en la población general, pero con una alta frecuencia entre los descendientes de origen judío (ashkenazi) de Europa Central y del Este (Fernández-Carvajal et al. 2006)

#### **2.4.6. Retraso mental ligado al X**

El RM ligado a X (RMLX) constituye un grupo heterogéneo que, basándose en su presentación clínica, se han clasificado tradicionalmente en sindrómico (RMS) y no sindrómico o inespecífico (RMX). La prevalencia de RMLX en varones se estima en un 10%, excluido el síndrome de X frágil. Existen más de 100 genes implicados en el RMLX, habiéndose encontrado hasta la fecha muchos más genes relacionados con la función cognitiva en el cromosoma sexual X que en cualquier otro autosoma. (Guillén-Navarro et al. 2006)

– **Retraso Mental Sindrómico ligado al cromosoma X (RMS)**

El RMS se asocia a un patrón específico de anomalías físicas, neurológicas o metabólicas. Existen cerca de 140 formas sindrómicas de RMLX y se han identificado las mutaciones génicas causales en casi la mitad de ellas (Guillén-Navarro et al. 2006). Un claro ejemplo es el síndrome del X-fragil (OMIM 300624), caracterizado por presentar retraso mental de moderado a profundo, cara larga, orejas largas, mandíbula prominente, macroorquidismo pospuberal, y algunas veces macrocefalia y anomalías del sistema conectivo (Devys et al. 1993), este síndrome es causado por mutaciones en el gen *FMR1*, la mayoría de casos por la expansión del triplete CGG (más de 200 repeticiones) que induce la metilación y consiguiente supresión de la transcripción (Knight et al. 1993), aunque también se han dado casos de deleciones o mutaciones puntuales (Gronskov et al 2011). Es el segundo síndrome más frecuente causante de RM después del síndrome de Dow. En la población se encuentra entre 1/6000 y 1/4000 varones (Crawford et al.2002).

– **Retraso Mental No Sindrómico o inespecífico ligado al cromosoma X (RMX)**

El RMX se caracteriza por la ausencia de rasgos morfológicos, neurológicos, bioquímicos o conductuales específicos que permitan definir una variante clínica concreta. Aunque se desconoce su prevalencia, se cree que las formas inespecíficas representan al menos la mitad del total de RMLX. Se han identificado hasta 122 genes relacionados descubiertos hasta el 2015 (Greenwood Genetic Center. 2015).

El síndrome de Rett (OMIM 312750), puede o no presentarse en forma sindrómica, está caracterizado por un estancamiento del desarrollo entre los 6 a 18 meses, regresión de las competencias adquiridas, pérdida del habla, movimientos estereotipados (lavado de manos), microcefalia, convulsiones y RM (Moog et al. 2003). Este síndrome se produce por mutaciones puntuales (Amir et al. 1999) o por deleciones que pueden llegar a ser multiexónicas (Ravn et al. 2005; Hardwick et al. 2007). Este síndrome es casi exclusivo en mujeres, y se ha encontrado con una frecuencia de 1/19786 niñas (Burd et al. 1991).

En la tabla 4, se muestra una lista de algunos genes, cuyas alteraciones son causantes de RM ligado al X.

**Tabla 4.** Relación de genes asociados en el RMLX. Fuente: GIRMOGEN 2012

Gen	Síndrome	Locus
<b>RM ligado al X de origen sindrómico</b>		
<i>MID1</i>	Opitz/GBBB	Xp22
<i>DMD</i>	Distofia muscular de Duchenne	Xp21.2
<i>PLP</i>	Pelizaeus –Merzbacher	Xq21-q22
<i>DCX</i>	Lisencefalia ligada al X	Xq22.3-q23
<i>OCRL</i>	Lowe	Xq26.1
<i>HPRT</i>	Lesch – Nyhan	Xq26-q27.2
<b>RM ligado al X inespecífico</b>		
<i>OPHN1</i>	Oligofrenina 1	Xq12
<i>PAK3</i>	Cinasa activante de p21.3	Xq23
<i>FMR2</i>	FRAXE	Xq28
<b>Genes implicados tanto en formas sindrómicas como inespecíficas</b>		
<i>RSK2</i>	Coffin – Lowry	Xp22.1
<i>ARX</i>	West, Partington, Proud	Xp22.1
<i>PQBP1</i>	Rapenning, Sutherland-Haan, Porteus	Xp11.2
<i>FGD1</i>	Aarskog-Scott/displasia Facio gneital	Xp11.2
<i>MECP2</i>	Rett	Xq28
<i>SLC6A8</i>	Transportador de creatinina	Xq28

## 2.5. Diagnóstico Genético del RM

### 2.5.1. Cariotipo

En los laboratorios de citogenética, se hacen estudios cromosómicos con bandas G o R con bandeado de alta resolución a pacientes con retraso mental, retraso del desarrollo, defectos congénitos, infertilidad, abortos a repetición y distintos tipos de cáncer; técnicas que permiten ampliar los criterios para un diagnóstico más preciso a nivel cromosómico. Con estas técnicas se han logrado diagnosticar duplicaciones, deleciones, inversiones, translocaciones, etc., con una resolución de bandas por juego haploide de 450 a 850. Las bandas obtenidas con el bandeado G nos muestran el cromosoma con un patrón específico de bandas oscuras y claras. El análisis de esos patrones de bandas nos permite ver pequeñas alteraciones, con una resolución de hasta 3-5Mb.

En los primeros años de la citogenética clínica, fueron describiéndose fenotipos asociados a diversas anomalías cromosómicas: síndrome de Patau (trisomía 13), síndrome de Edwards (trisomía 18), síndrome de Turner (monosomía X), etc., para posteriormente describir alteraciones estructurales: deleciones y duplicaciones asociadas a fenotipos menos prevalentes. Esto condujo a una revolución en el campo del RMy sus causas, pudiendo ofrecer asesoramiento genético en muchas familias. (Gardner RJM. y Sutherland GR. 2004)

Sin embargo, existen limitaciones en el estudio citogenético convencional, aparte de la resolución, la dificultad en el análisis de cromosomas pequeños y para definir reordenamientos cromosómicos complejos y/o detectar mosaicismos (Patsalis et al. 2004).

#### **2.5.2. Hibridación *in situ* fluorescente (FISH)**

En los años 90, con la novedosa tecnología de PCR para el diagnóstico de enfermedades monogénicas, se introduce también la tecnología de Hibridación *In Situ* Fluorescente (FISH) como ayuda al diagnóstico de síndromes de microdeleción, en la que se hibridan oligonucleótidos fluorescentes con la muestra problema, permite determinar el número y localización de secuencias específicas de ADN tanto en cromosomas metafásicos como en núcleos interfásicos. Se pueden diagnosticar deleciones de síndromes conocidos o translocaciones crípticas con una resolución de 0,5Mb. Las sondas comercializadas o hechas en el laboratorio a partir de bibliotecas de fagos, cósmidos, BACs, YACs, entre otros incluyen ácidos nucleicos de secuencia única, de secuencias centroméricas, de telómeros, de cromosomas completos ("painting"). Ejemplos de síndromes asociados a retraso mental, que se pueden diagnosticar con FISH son: deleción 1p36, Wolf-Hirschhorn (4p16), Cri-du-chat (5p15), Williams-Beuren (7q11.23), Smith-Lemli-Opitz (11q12q13), Prader-Willi (15q11q13), Angelman (15q11q13), Rubinstein-Taybi (16p13.3), Smith-Magenis (17p11.2), Miller Dieker (17p), DiGeorge (22q11.2) entre otros. (Halder et al. 2013)

La limitante del FISH es que no permite visualizar el genoma entero sino sólo aquellas partes para las que se disponga de sondas predeterminadas. Es, por tanto, un análisis dirigido; y es sobre todo en la aplicación de esta técnica donde la genética clínica y la citogenética deben ir de la mano, de ahí que la orientación del clínico en relación al diagnóstico es muy importante. Esto se puede posteriormente corroborar en el laboratorio. Otras técnicas útiles que se han usado para la identificación de material cromosómico desconocido como ha sido el cariotipo espectral (SKY) (Halder et al. 2013).

### **2.5.3. Hibridación genómica comparada (CGH)**

Una modificación al FISH es el CGH (Comparative Genomic Hybridization), o Hibridación Genómica Comparada que fue descrita por Kallioniemi et al. en 1992 para el análisis citogenético-molecular en tumores sólidos. Con esta técnica, en los mejores casos se conseguían resoluciones de 3 Mb, pero en general la resolución es de 5-10 Mb. La técnica es apropiada cuando en el cariotipo tenemos material extra no identificado o translocaciones complejas.

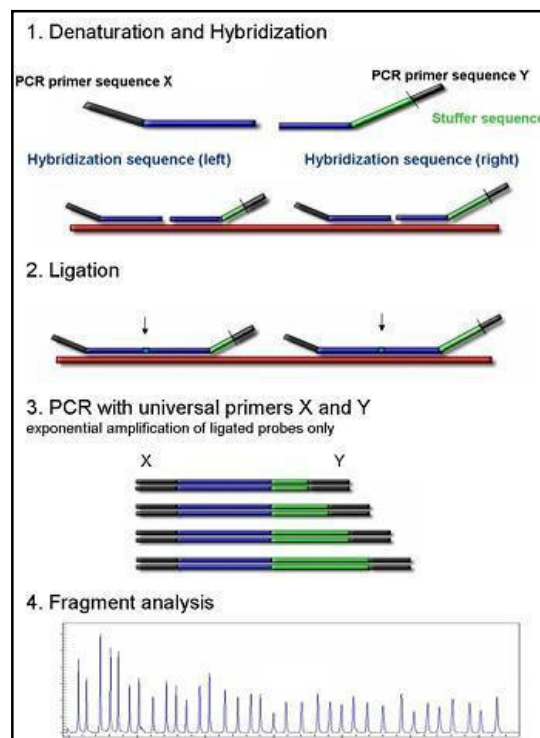
Por ejemplo, en un estudio de pacientes con problemas de aprendizaje y rasgos dismórficos, el 10% tenían duplicaciones y/o deleciones detectadas con CGH y no con el cariotipo (Kirschhoff et al, 2001).

En la CGH se extrae el ADN de un individuo control con cariotipo normal y del individuo que se quiere analizar. Los dos ADN se marcan con dos fluorocromos diferentes y se aplican a cromosomas metafásicos. Las diferencias entre las intensidades de los fluorocromos nos van a revelar ganancias o pérdidas de material genómico. Los análisis con CGH han sido muy útiles en el estudio de tumores. En el año 1995 y posteriores se describen reordenamientos cromosómicos en regiones subteloméricas, no visibles con la citogenética convencional, y que son causa de RM con o sin anomalías congénitas (Shoukier et al. 2013).

#### 2.5.4. Amplificación múltiple dependiente de ligación con sondas (MLPA)

En el año 2002 se describe por primera vez una nueva metodología llamada MLPA, registrada por la compañía MRC Holland. Esta técnica en general, detecta el número de veces que está presente cada copia de la región amplificada, por lo que es capaz de detectar individuos homocigotos o heterocigotos en deleciones o duplicaciones en varias enfermedades (Schouten et al. 2002).

La técnica del MLPA, es un método que permite llevar a cabo reacciones de PCR multiplex en ADN, ARN o ADN-met. Con este método pueden detectarse y cuantificarse hasta 45 secuencias específicas. Se lleva a cabo en cuatro pasos; primero se denatura el ADN, luego se hibridan las sondas compuestas por una región complementaria y otra no complementaria (llamada cola). Esta última varía en tamaño para que los fragmentos finales sean diferentes. Luego de la hibridación estos fragmentos tienen que ligarse, para que finalmente se amplifiquen dichos fragmentos más no las regiones iniciales, ya que los iniciadores utilizados son complementarios a las colas de las sondas (véase Figura1).



**Figura 1:** Esquematación del proceso del MLPA. Fuente: MRC Holland. ([www.mlpa.com/WebForms](http://www.mlpa.com/WebForms))



Posteriormente los fragmentos amplificados deben ser evaluados mediante una electroforesis capilar. Los resultados obtenidos deben ser analizados utilizando diferentes programas que valoran todos los pasos de la reacción y analizan numérica y estadísticamente cada fragmento y cada muestra. Coffalyser es un programa de libre acceso que tiene como una de sus funciones exportar gráficos de diagramas de cajas, que se basan en los valores de un índice resultante de la división del número de copias encontradas entre el número de copias esperadas de cualquier fragmento (Coffa et al. 2011). En casos de cromosomas autosómicos se esperarán tanto para hombres como para mujeres que existan dos copias de cada fragmento, lo que se evidenciará con un índice igual a 1, pudiendo obtenerse otros valores como 0; 0.5; 1.5 y 2 considerados valores anómalos (véase Tabla 5). En caso de evaluar fragmentos presentes en el cromosoma X, en mujeres no hay diferencia con lo anterior, sin embargo, en varones se espera encontrar una copia de cada región, lo que también se presentaría como un índice igual a 1, pudiéndose encontrar solo dos tipos de valores anómalos, 0 y 2. (Véase Tabla 5)

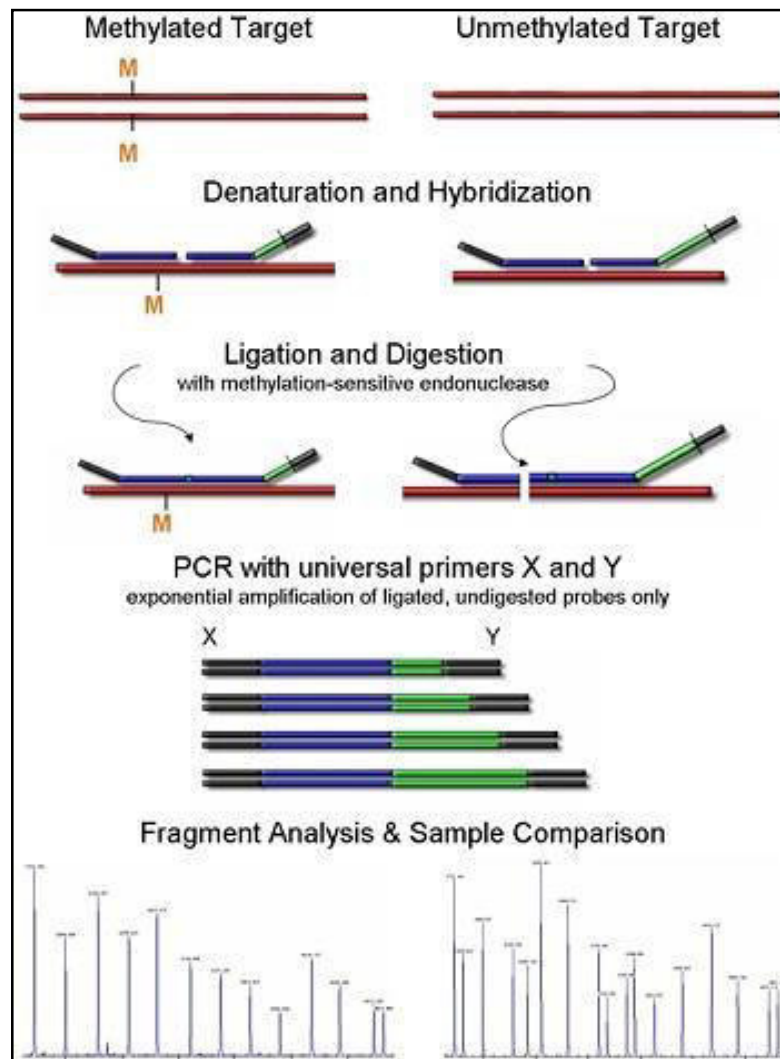
Esta técnica se ha venido utilizando para análisis de enfermedades neurogenéticas, retraso mental, cáncer hereditario, caracterización de tumores, farmacogenética, y diferentes desórdenes genéticos. Pero sobre todo resulta útil en la detección de reordenamientos subteloméricos en RM (Koolen et al. 2004; Rooms et al. 2004; Palomares et al. 2006), con tasas de detección de alrededor del 5%.

**Tabla 5.** Correspondencia del genotipo según el número de copias presente vs. el índice asignado (resultado del número de copias encontradas entre el número de copias esperadas). Fuente: MLPA-DNA protocol versión MDP-v003 (MRC-Holland).

Nivel del número de copias	Cociente del dosaje
Normal	$0.85 < DQ < 1.15$
Duplicación heterocigota	$1.35 < DQ < 1.55$
Triplicación	$1.70 < DQ < 2.20$
Deleción heterocigota	$0.35 < DQ < 0.65$
Deleción homocigota	0
Número de copias ambiguo	Otros valores

### 2.5.5. Amplificación múltiple dependiente de ligación con sondas – metilación específica (MLPA-MS)

En lo que se refiere a la técnica del MLPA-MS, los pasos no varían sustancialmente, sólo al momento de la ligación, que es donde se separa la muestra hibridada en dos partes, a una se le adicionan sólo la ligasa y a la otra se le adiciona ligasa más una enzima de restricción, la HhaI. Esta enzima tiene la capacidad de cortar si encuentra el segmento CGCG, lo que finalmente se evidenciará al no observarse el fragmento que corresponda a la región que lo contenga. Por otra parte, la enzima no podrá cortar el segmento si presenta las guaninas metiladas, lo que se evidenciará luego al amplificarse dichos fragmentos. (Véase Figura 2)



**Figura 2:** Esquemización del proceso del MLPA-MS. Fuente: MRC Holland. ([www.mlpa.com/WebForms](http://www.mlpa.com/WebForms))

En lo que respecta al análisis, se llevan a cabo dos al mismo tiempo, un primer análisis que evalúa presencia/ausencia del fragmento y número de copias, como el explicado anteriormente y adicionalmente un segundo análisis que evalúa presencia/ausencia y número de copias de los fragmentos que presentan el sitio de restricción para HhaI. Por ejemplo, en el caso de evaluar pacientes con un presunto síndrome de X-frágil, teniendo en cuenta solo las regiones que presentan el sitio de restricción para HhaI, para el caso de las mujeres, al presentar dos copias del cromosoma X, se espera que una de ellas presente regiones metiladas, lo que se correspondería con un índice de 0.5 o en otras palabras que en mujeres es normal un 50% de metilación en regiones del cromosoma X. Por otro lado, en el caso de los varones, al presentar estos un único cromosoma X, las regiones de este cromosoma no se deben encontrar metiladas, correspondiéndose con un índice igual o cercano a 0.

Gracias a que esta técnica permite el análisis de metilación, es posible evaluar de forma sencilla algo del epigenoma. En general se han realizado estudios de tamizaje en casos de X-frágil no detectados por cariotipo, en diferentes poblaciones (Nygren et al. 2008, Gatta et al. 2013).

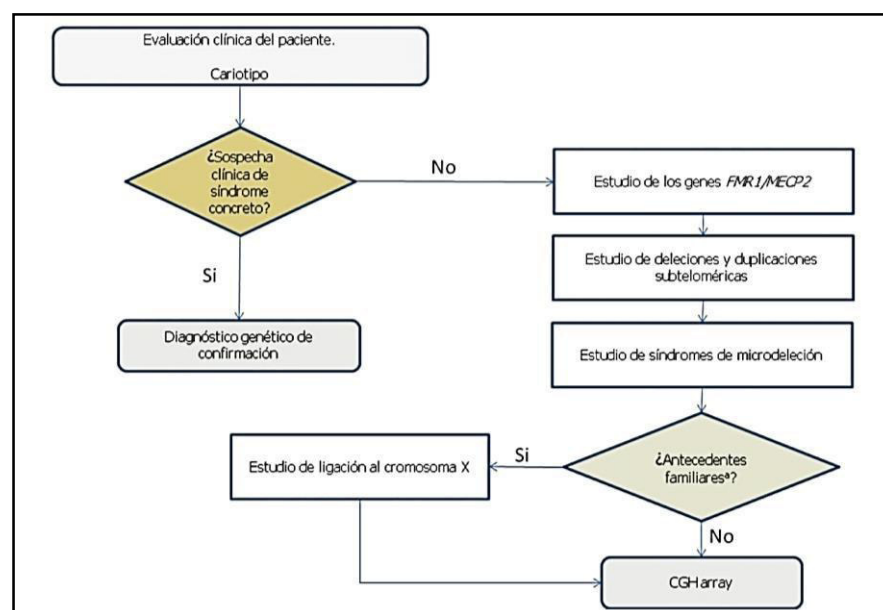
#### **2.6. Diagnóstico de RM de origen genético. Protocolo de estudio propuesto por el grupo de Investigación en Retraso Mental de Origen Genético, (GIRMOGEN)**

Este protocolo considera una evaluación clínica inicial del niño con RM, que incluye una historia clínica completa, un árbol genealógico de al menos tres generaciones y una exploración física cuidadosa que incluya medidas, presencia de rasgos dismórficos o malformaciones, hallazgos neurológicos y trastornos de conducta. Ante una sospecha diagnóstica de un síndrome concreto que curse con RM, ésta deberá confirmarse a nivel citogenético o molecular, si es posible, con la técnica correspondiente.

En primer lugar este protocolo propone realizar un estudio citogenético convencional (cariotipo) con un nivel mínimo de resolución de 550 bandas G, a todos los pacientes. Como segundo paso debe de realizarse el descarte del síndrome X frágil (estudio del

gen *FMR1*), tanto en niños como en niñas, y adicionalmente en el caso de las niñas también debe de considerarse el estudio genético del síndrome de Rett (estudio del gen *MECP2*). El tercer paso propuesto es descartar alteraciones en las regiones subteloméricas ya que un 6-10% de los RM presentan microduplicaciones o microdeleciones en estas regiones. En este protocolo se propone utilizar tanto técnicas de FISH como de MLPA, siendo esta última la más recomendada por su menor costo. Si la evaluación hasta este punto aún no conduce a ningún diagnóstico claro, se propone continuar con el cuarto paso que consiste en el estudio de síndromes de microdeleciones o microduplicaciones más conocidas mediante la técnica de MLPA. En el caso de que esta prueba resulte negativa, un quinto paso considerado sólo para varones consistiría en realizar un estudio de RM ligado al cromosoma X mediante MLPA en pacientes con una historia familiar positiva siempre y cuando cumplan los siguientes criterios: tener tres hermanos afectados o tener tres varones afectados en dos generaciones. Por último, el sexto paso recomendado cuando el paciente no cumple con estos criterios, o bien el estudio de RM ligado al cromosoma X es negativo, es proceder a realizar un análisis más extenso mediante el array-CGH.

Estos pasos se sintetizan en el siguiente cuadro:



**Figura 3:** Algoritmo diagnóstico genético para RM. Fuente: GIRMOGEN 2012.

### **3. HIPÓTESIS**

H<sub>1</sub>: La técnica MLPA es capaz de detectar mutaciones de tipo delección y/o duplicación causantes de RM síndrómico o no síndrómico en pacientes provenientes del Servicio de Pediatría del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, siguiendo los pasos propuestos por GIRMOGEN 2012.

H<sub>0</sub>: La técnica MLPA no es capaz de detectar mutaciones de tipo delección y/o duplicación causantes de RM síndrómico o no síndrómico en pacientes provenientes del Servicio de Pediatría del Hospital Edgardo Rebagliati Martins, siguiendo los pasos propuestos por GIRMOGEN 2012.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. GENERAL**

- Detectar las mutaciones de tipo delección y/o duplicación causantes de RM idiopático síndrómico o no síndrómico en diferentes genes y regiones, por medio de la técnica MLPA, siguiendo los pasos propuestos por GIRMOGEN 2012.

#### **4.2. ESPECÍFICOS**

- Evaluar la presencia de las mutaciones causantes de RM idiopático en una muestra de pacientes peruanos, empleando la técnica MLPA.
- Determinar la frecuencia y tipo de mutaciones en el grupo de pacientes peruanos con RM idiopático.
- Determinar si los pasos propuestos por GIRMOGEN 2012 para la detección de mutaciones causantes de RM idiopático, son adecuados.
- Proponer una secuencia de pasos a seguir para el diagnóstico del RM en pacientes peruanos, por medio de la técnica MLPA, basada en los pasos sugeridos por GIRMOGEN 2012 y los resultados de esta investigación.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Materiales**

#### **5.1.1. Lugar de ejecución**

Centro de Genética y Biología Molecular (CGBM) del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres.

#### **5.1.2. Material biológico**

Una muestra de 3 a 4 mL sangre periférica, en tubos vacutainer con EDTA, de 50 pacientes diagnosticados clínicamente con retraso mental provenientes del Servicio de Genética - Departamento de Especialidades Médicas. Hospital Edgardo Rebagliati Martins - EsSalud, Previamente se obtuvo del padre o de la madre el consentimiento informado aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad San Martín de Porres (ver anexo 1). Como individuos control se utilizaron muestras de ADN de 10 personas (hombres y mujeres 50:50) que presentan un CI en el rango normal, proporcionadas por el CGBM.

#### **5.1.3. Materiales de laboratorio**

##### **5.1.3.1. Equipos**

- Micropipeta de 1-10 uL (Marca: Gilson, Modelo: Pipetman, Serie: HM23412)
- Micropipeta de 20-200 uL (Marca: Gilson, Modelo: Pipetman, Serie: KA27395)
- Micropipeta multicanal de 1-10 uL (Marca: Axygen, Serie: 853750033)
- Micropipeta multicanal de 20-200 uL (Marca: Axygen, Serie: 050170008)
- Centrífuga Refrigerada (Marca: Eppendorf, Modelo: 5804R, Serie: 5805ZM937072)
- Microcentrífuga (Marca: Heraeus, Modelo: Biofuge pico, Serie: 75003280)
- Termociclador de gradiente (Marca: Applied Biosystems, Modelo: 9902, Serie: 299027750)
- Analizador genético 3500 series (Marca: Applied Biosystems, Modelo: 3500 series)

- Computadora (Marca: Levono, Modelo: ThinkCentre, Serie: 1S10B7ADESOBMJO1FMEN)

#### **5.1.3.2. Reactivos**

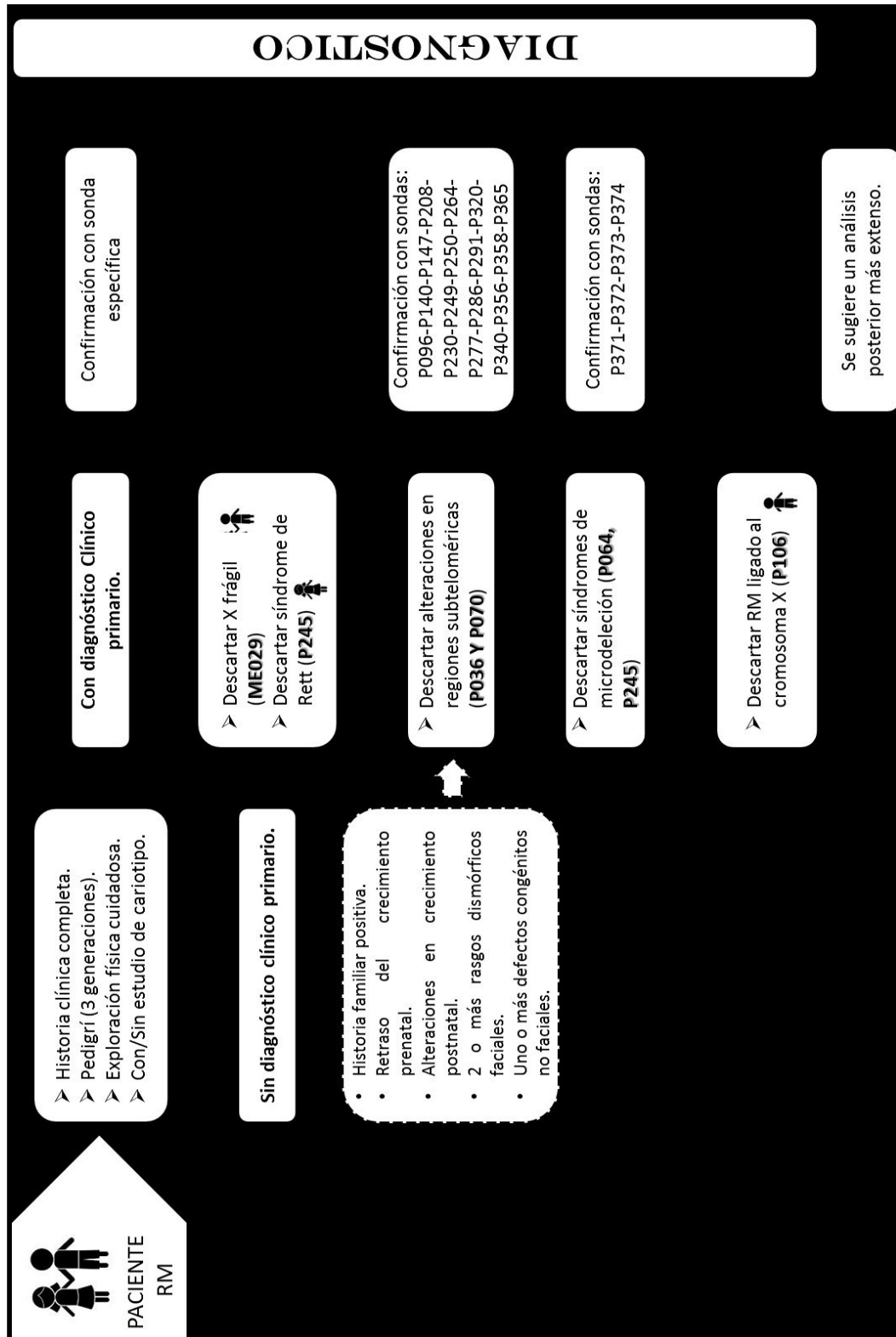
- Tris base GM
- EDTA con 2 sodios GM
- Lauril – Sarcosil
- Proteinasa K
- Acetato de amonio
- Cloruro de sodio
- Etanol Absoluto
- Kit Qubit dsDNA BR assay
- Agua ultrapura
- Kit para 50 reacciones de los mix de sondas: ME029, P036, P070, P064, P245 y P106.
- Kit para 500 reacciones de EK5\_FAM
- Formamida Hi Di
- Genescan-500 liz size std kit
- Pop-7 polymer for 3500/3500xl genetic analyzers
- Anode buffer container (abc) 3500 series
- Cathode buffer container (cbc) 3500 series

#### **5.1.3.3. Material de Plástico**

- Guantes XS sin talco
- Tubos vacutainer con EDTA (tapa lila)
- Tips de 10 uL, 200 uL
- Tips con filtro de 10 uL y 200 uL
- Tubos de 1.5 mL y 0.2 mL
- Tubos de 15 mL
- Qubit assay tubes are 500 µl
- 3500 genetic analyzer capillary array, 50cm
- Microplacas de 96 pocillos
- Microamp 96-well full plate

## 5.2. Métodos

El siguiente diagrama de flujo muestra cómo se realizó el presente estudio utilizando solamente mix de sondas MLPA, diagrama basado en un protocolo propuesto por GIRMOGEN 2012:



**Figura 4:** Esquema que muestra el camino que siguieron las muestras hasta obtener un diagnóstico.



### 5.2.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir de la sangre periférica siguiendo el protocolo conocido como “salting out” estandarizado en el Centro de Genética y Biología Molecular de la FMH-USMP.

– 1<sup>er</sup> Día:

Se extrae 3ml de sangre periférica en tubos al vacío con EDTA. La sangre se trasvasa a un tubo de 15mL y se le agrega buffer TE 20:5 (Tris 0.02M y EDTA 0.005M, pH: 7.5) completándose a 13mL, se mezcla por inversión y se centrifuga a 3500rpm por 18 min, luego se descarta el sobrenadante y el pellet es resuspendido en 10mL de mismo buffer TE 20:5 para volver a ser centrifugado a 3500rpm por 14min. Estos pasos de lavado se hacen un máximo de tres veces, para eliminar los eritrocitos y así purificar la fracción de linfocitos de la sangre extraída.

El pellet es resuspendido en 500µL de buffer TE 20:5 (Tris 0.02M y EDTA 0.005M, pH: 7.5) más 160µL de Lauryl-sarkosyl al 10% (detergente que ayuda a destruir membranas) y más 8µL de proteinasa K (1mg/mL) (enzima que degrada proteínas) dejándose incubar toda la noche a 50°C.

– 2<sup>do</sup> Día:

Se realiza un primer lavado de la mezcla con 400µL de acetato de amonio 10M seguido de una precipitación con 7mL de etanol absoluto frío. Se descarta el sobrenadante y la pelusa obtenida se resuspende en 500µL de buffer TE 20:5 (Tris 0.02M y EDTA 0.005M, pH: 7.5), para hacer el segundo lavado con 20µL de NaCl 5M seguido nuevamente de una precipitación con 3mL de etanol absoluto frío. Se descarta el sobrenadante y en seguida se realiza un lavado con etanol a 70° para extraer los remanentes de sales y rehidratar la pelusa. Finalmente, la pelusa se trasvasa a un eppendorf de 1.5mL y se deja secar por espacio de unas horas. Luego se resuspende en buffer TE 10:1 (Tris 0.01M y EDTA 0.001M, pH: 7.5), y se guarda la muestra a -20°C. Cada tubo de sangre rinde en promedio un tubo eppendorf con 300-500 ul de ADN, que es codificado y guardado hasta su uso.

### 5.2.2. Técnica del MLPA

Esta técnica, Amplificación de Sondas dependiente de Ligamiento Múltiple, se realizó según el protocolo (MLPA-DNA protocol, versión MDP-v003) (MRC-Holland 2013). Se utilizaron los kits: ME029, P036, P070, P064, P245 y P106. Estos contienen sondas para detectar duplicaciones o deleciones de diferentes regiones causantes de diferentes síndromes relacionados con RM, tal como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6:** Relación de los mix de sondas utilizadas y las alteraciones detectables.

Mix de Sondas	Alteración/Síndrome		Mix de sondas para confirmar
<b>ME029</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ S. X-frágil</li> </ul>		
<b>P036 P070</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Regiones subteloméricas</li> </ul>		P096, P140, P147, P208, P230, P249, P50, P264, P277, P286, P291, P320, P340, P356, P358, P365.
<b>P064</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ S. de Deleción 1p36</li> <li>○ S.Wolf-Hirschhorn</li> <li>○ S.Cri du Chat</li> <li>○ S.Saethre/Chotzen</li> <li>○ S.Williams-Beuren</li> <li>○ S.Langer-Giedion</li> <li>○ S.WAGR</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ S.Angelman/ Prader-Willi</li> <li>○ S.Rubinstein-Taybi</li> <li>○ S.Miller-Dieker</li> <li>○ S.Smith-Magenis</li> <li>○ S.Alagille</li> <li>○ S.DiGeorge</li> <li>○ S.Phelan-McDermid</li> </ul>	
<b>P245</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Síndrome Deleción 1p36</li> <li>○ Microdeleción 2p16</li> <li>○ Microdeleción/MBD5 2q23</li> <li>○ Microdeleción/SATB 22q33</li> <li>○ Microdeleción 3q29</li> <li>○ Microdeleción 9q22.3</li> <li>○ Síndrome Deleción 15q24</li> <li>○ Microdeleción 17q21</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 22q13 /Phelan-McDermid</li> <li>○ S.Cri du Chat</li> <li>○ S.DiGeorge</li> <li>○ S.Langer-Giedion</li> <li>○ S.Miller-Dieker</li> <li>○ S.Angelman/ Prader-Willi</li> <li>○ S.Rubinstein-Taybi</li> <li>○ S.Smith-Magenis</li> <li>○ S.de Sotos</li> <li>○ S.Williams-Beuren</li> <li>○ S.Wolf-Hirschhorn</li> </ul>	P371, P372, P373, P374.
<b>P106</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Retraso Mental Ligado al X</li> </ul>		

Todo el procedimiento se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante, tal como se resume en las tablas 7 y 8.

**Tabla 7:** Resumen de la metodología empleada para MLPA.

Pasos a seguir para MLPA				
Paso	Día	Proceso	Reactivo	Programa
1	1	DENATURACIÓN	5 uL de DNA	98°C x 5 min
2	1	PAUSA	Adicionar 3 uL de master mix hibridación (1.5 uL de buffer MLPA + 1.5 de mix de sondas)	25°C
3	1	HIBRIDACIÓN		95°C x 1 min 60°C x 16 h
4	2	PAUSA	Adicionar 32 uL de master mix ligación (25 uL de H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 3 uL de buffer ligasa A + 3 uL de buffer ligasa B + 1 uL de ligasa-65)	54°C
5	2	LIGACIÓN		54°C x 20 min 98°C x 5min
6	2	PAUSA	Adicionar 10 uL de master mix PCR (7.5 uL de H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 2 uL de mix PCR + 0.5 de mix polimerasa)	25°C
7	2	PCR		95°C x 30 s
				95°C x 30 s 60°C x 30s 72°C x 1min
				72°C x 20 min 25°C

**Tabla 8:** Resumen de la metodología empleada para MLPA-MS.

Pasos a seguir para MLPA-MS				
Paso	Día	Proceso	Reactivo	Programa
1	1	DENATURACIÓN	5 uL de DNA	98°C x 5 min
2	1	PAUSA	Adicionar 3 uL de master mix hibridación (1.5 uL de buffer MLPA + 1.5 de mix de sondas)	25°C
3	1	HIBRIDACIÓN		95°C x 1 min 60°C x 16 h
4	2	PAUSA	Adicionar 13 uL de mix A (10 uL de H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 3 uL de buffer ligasa A) y separar 10uL de la mezcla final a otro tubo.	20°C
		PAUSA	Adicionar a cada tubo 10 uL de mix ligación (8.25 uL de H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 1.5 uL de buffer ligasa B + 0.25 uL de ligasa-65) o de mix ligación-digestión ((7.25 uL de H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 1.5 uL de buffer ligasa B + 0.25 uL de ligasa-65 + 0.5uL de HhaI (10u/uL))	48°C
5	2	LIGACIÓN		48°C x 35 min 98°C x 5min
6	2	PAUSA	Adicionar 5 uL de mix PCR (3.75 uL de H <sub>2</sub> O <sub>d</sub> + 1 uL de mix PCR + 0.25 de mix polimerasa)	20°C
7	2	PCR		95°C x 30 s
				95°C x 30 s 60°C x 30s 72°C x 1min
				72°C x 20 min 25°C

### **5.2.3. Electroforesis capilar**

Para proceder a la electroforesis capilar se debe realizar un pre-tratamiento que consiste en mezclar 1uL del producto de PCR más 0.2uL de marcador de peso (LIZ 500) y 9uL de formamida HiDi, y denaturar la mezcla por 3 min a 90°C.

La electroforesis capilar se realizó en un equipo ABI-3500, con capilar de 50cm y POP 7, siendo las condiciones 1.6KV de voltaje de inyección y 15 segundos de tiempo de inyección. La electroforesis se realiza en un tiempo promedio de una hora por columna y se extraen los datos para posterior análisis.

### **5.2.4. Análisis de datos**

El análisis de los datos se realizó mediante el programa de libre acceso Coffalyser, recomendado por el fabricante MRC-Holland. Este análisis comprende dos etapas, una en la que se lleva a cabo un análisis de fragmentos para cada muestra, y otra donde se lleva a cabo un análisis comparativo. De la primera etapa, lo más importante es el puntaje de los fragmentos de reacción MLPA (FMRS) y de la segunda etapa lo más importante es el puntaje del análisis del Coffalyser (CAS). Finalmente se utilizó la relación de fluorescencia (DQ) según lo propone MRC-Holland en su MLPA General Protocol versión MDP-003 (08-08-2013) (ver Tabla 5)

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Descripción de la población en estudio

Se estudiaron 50 pacientes diagnosticados clínicamente con RM, provenientes del Servicio de Genética - Departamento de Especialidades Médicas. Hospital Edgardo Rebagliati Martins – EsSalud.

De los 50 pacientes, 38 llegaron con un diagnóstico primario (algún síndrome que se caracteriza por la presencia de RM) a descartar y 12 fueron referidos desde un inicio como casos idiopáticos. Se evaluaron primero los pacientes que venían con un diagnóstico primario, confirmándose como tales 19 de ellos, y pasando el resto a ser considerados como casos idiopáticos. (Ver tabla 9 y figuras 4 y 5)

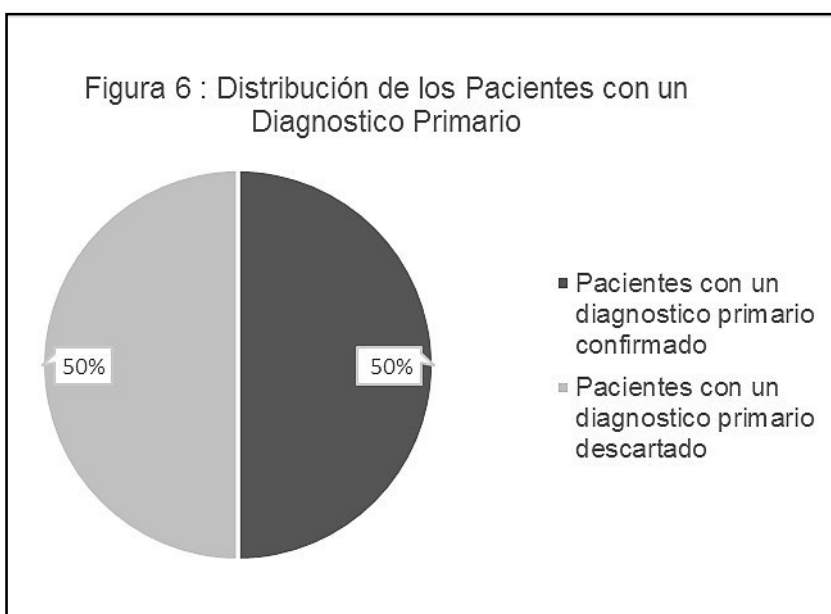
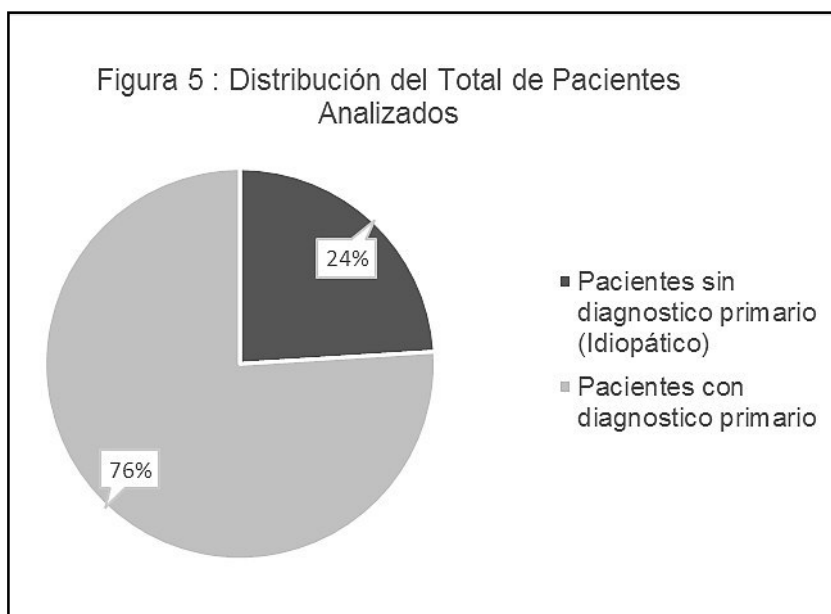
**Tabla 9:** Lista del total de pacientes diagnosticados clínicamente con RM

Código			Diagnostico Primario	Cariotipo		Probe	
RM32	M	11	S. Williams	46 XY	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM33	M	5	S. Di George	46 XY	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM34	M	10	S. Williams	46 XY	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM35	M	4	S. Williams	46 XY	Milagros Dueñas	P064	N
						P245	N
RM36	M	1	S. Di George	46 XY	Milagros Dueñas	P064	N
						P245	N
RM37	F	1.10	S. Williams	46 XX	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM38	F		S. Di George	46 XX	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM39	M		Prader Willi	46 XY	Milagros Dueñas	P064	N
						P245	N
						ME028	P
RM40	M	0.5	S. Di George	46 XY	Ruth Yabar	P064	P
						P245	P
RM41	M		S. Di George	46 XY	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM42	M		S. Williams	46 XY	Milagros Dueñas	P064	N
						P245	N

Código	Sexo	Edad	Diagnostico Primario	Cariotipo	Medico de contacto	Probe	Resultado
RM43	M	2.8	S. Williams	46 XY	Ruth Yabar	P064	P
						P245	P
RM44	F	1.8	S. Prader Willi	46 XX	Milagros Dueñas	P245	P
						ME028	P
RM45	F	3.3	S. Williams	46 XX	Ruth Yabar	P064	P
						P245	P
RM46	F		S. Prader Willi	46 XX, FISH (+)	Milagros Dueñas	P245	P
						ME028	P
RM47	M	9	S. Prader Willi	46 XY	Ruth Yabar	P245	N
						ME028	N
RM48	F	7	S. Williams	46 XX	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM49			S. velocardiofacial		Ruth Yabar	P250	N
RM50	M	4	S. Angelman	46 XY	Ruth Yabar	P245	N
						ME028	N
RM51	F	2.8	Idiopático	46 XX	Milagros Dueñas		
RM52	M	11	Microlelección	46 XY	Milagros Dueñas	P245	N
						P250	N
RM53	M		Idiopático	46 XY	Milagros Dueñas		
RM54	F	4	S. Williams	46 XX	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM55	M		S. X-fragil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	P
RM56	M	4.7	Idiopático	46 XY	Milagros Dueñas		
RM57	M	14	S. X-fragil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	P
RM58	M		Micro del/dup	46 XY	Milagros Dueñas	P064	N
						P245	N
RM59	M	13	S. Prader Willi	46 XY	Ruth Yabar	P245	N
						ME028	N
RM60	M		S. Di George	46 XY	Milagros Dueñas	P245	P
						P250	P
RM61	M		Idiopático	46 XY	Milagros Dueñas		
RM62	F	1.10	S. Angelman	46 XX	Ruth Yabar	P245	N
						ME028	N
RM63	F		Idiopático	46 XX	Milagros Dueñas		
RM64	M		Idiopático	46 XY	Milagros Dueñas		

Código	Sexo	Edad	Diagnostico Primario	Cariotipo	Medico de contacto	Probe	Resultado
RM65	F		S. Williams	46 XX	Milagros Dueñas	P064	P
						P245	P
RM66	M		S. Di George	46 XY	Milagros Dueñas	P245	N
						P250	N
RM67	F		Idiopático	46 XX	Milagros Dueñas		
RM68	F		S. Di George	46 XX	Milagros Dueñas	P245	N
						P250	N
RM69	M		S. X-frágil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	N
RM70	M		S. X-frágil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	N
RM71	M	4	S. X-frágil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	N
RM72	M	7	S. X-frágil	46 XY	Ruth Yabar	P106	N
						ME029	N
RM74	F	11	Idiopático	46 XX	Ruth Yabar		
RM75	M	12	S. WARG	46 XY	Mirian Soria	P064	P
						P096	P
RM76	F	3.2	S. Rett	46 XX	Ruth Yabar	P245	N
RM77	M		Idiopático	46 XY	Ana Protzee		
RM78	M		Idiopático	46 XY	Ana Protzee		
RM79	M		Idiopático	47XY, +mar	Milagros Dueñas		
RM80	M		S. X-frágil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	N
RM81	F	4	Idiopático	46 XX	Milagros Dueñas		
RM80	M		S. X-frágil	46 XY	Milagros Dueñas	P106	N
						ME029	N

F: sexo femenino, M: sexo masculino, P: resultado positivo, N: resultado negativo



En total se evaluaron 31 pacientes con RM idiopático, siguiendo los pasos propuestos en la metodología (ver figura 3), a excepción del primer paso de descarte de aneuploidias (del 13, 18, 21, X e Y), ya que la mayoría de pacientes ya tenía un resultado de cariotipo (bandeo GTG) normal.

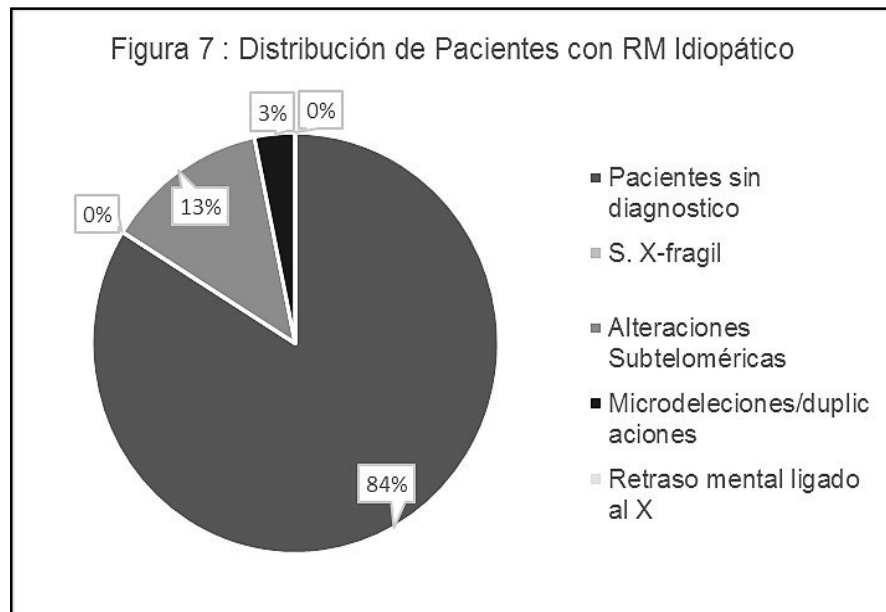
Según los resultados de la prueba de MLPA, de 31 pacientes con RM idiopático se encontró 0 pacientes varones con el Síndrome de X-frágil, 0 pacientes mujeres con el Síndrome de Rett, 4 pacientes con alguna alteración subtelomérica y/o pericentromérica, 1 con microdelección y/o microduplicación y 0 pacientes con Síndromes ligados al X (Ver Tabla 10 y Figura 7).



**Tabla 10:** Lista del total de pacientes con RM idiopático analizados.

Código	Sexo	Edad	Diagnostico/ Mix de Sondas							Sondas para confirmar resultados positivos	Resultado final
			Cariotipo	S. X-fragil	Alteraciones Subteloméricas		Microdelecciones /duplicaciones		Retraso mental ligado al X		
					ME029	P036	P070	P064			
RM35	M	4	46, XY	N	N	N	N	N	N		
RM36	M	1	46, XY	N	N	N	N	N	N		
RM42	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM47	M	9	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM49	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM50	M	4	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM51	F	2.8	46XX	-	P	P	-	-	-	P230, P286	del 10p15.3, dup 10q26.3
RM52	M	11	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM53	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM56	M	4.7	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM58	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM59	M	13	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM61	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM62	F	1.1	46XX	-	N	N	N	N	-		
RM63	F		46XX	-	N	N	N	N	-		
RM64	M		46XY	N	P	P	-	-	-	P286	del 9q34.3
RM66	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM67	F		46XX	-	P	P	-	-	-	P230	del 9p24.3
RM68	F		46XX	-	N	N	N	N	-		
RM69	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM70	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM71	M	4	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM72	M	7	46XY	N	N	N	N	N	N		
RM74	F	11	46XX	-	N	N	N	N	-		
RM76	F	3.2	46XX	-	N	N	N	N	-		
RM77	M	14	46XY	N	N	N	P	P	-	P373	del 04p16.3
RM78	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM79	M	12	47XY,+mar	N	P	P	-	-	-	ME028	dup 15q11.2
RM80	M		46XY	N	N	N	N	N	N		
RM81	F	4	46XX	-	N	N	N	N	-		
RM82	M		46XY	N	N	N	N	N	N		

F: sexo femenino, M: sexo masculino, P: resultado positivo, N: resultado negativo



## 6.2. Despistaje de las diferentes causas genéticas siguiendo el esquema de la metodología:

### 6.2.1. Despistaje del síndrome del X-frágil

En primer lugar se realizó este despistaje sólo para varones, ya que la prevalencia es mayor en varones que en mujeres, el mix de sondas utilizado (ME029) evalúa tanto alteraciones numéricas como patrón de metilación.

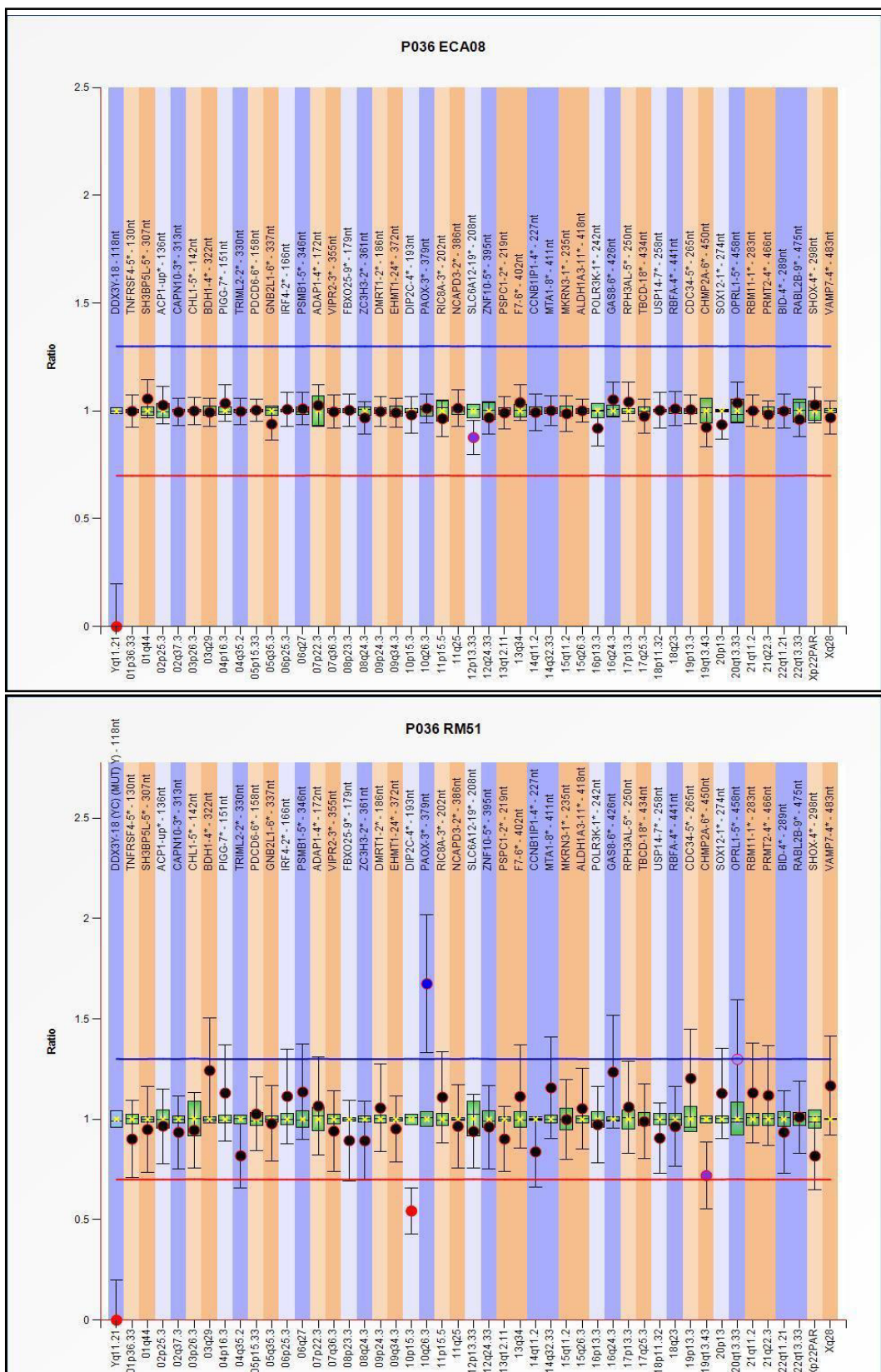
En todos los casos, ninguno de los pacientes presenta alteraciones ni en el número de copias, ni en los patrones de metilación (Ver Figura 8).



### 6.2.2. Despistaje de alteraciones subteloméricas

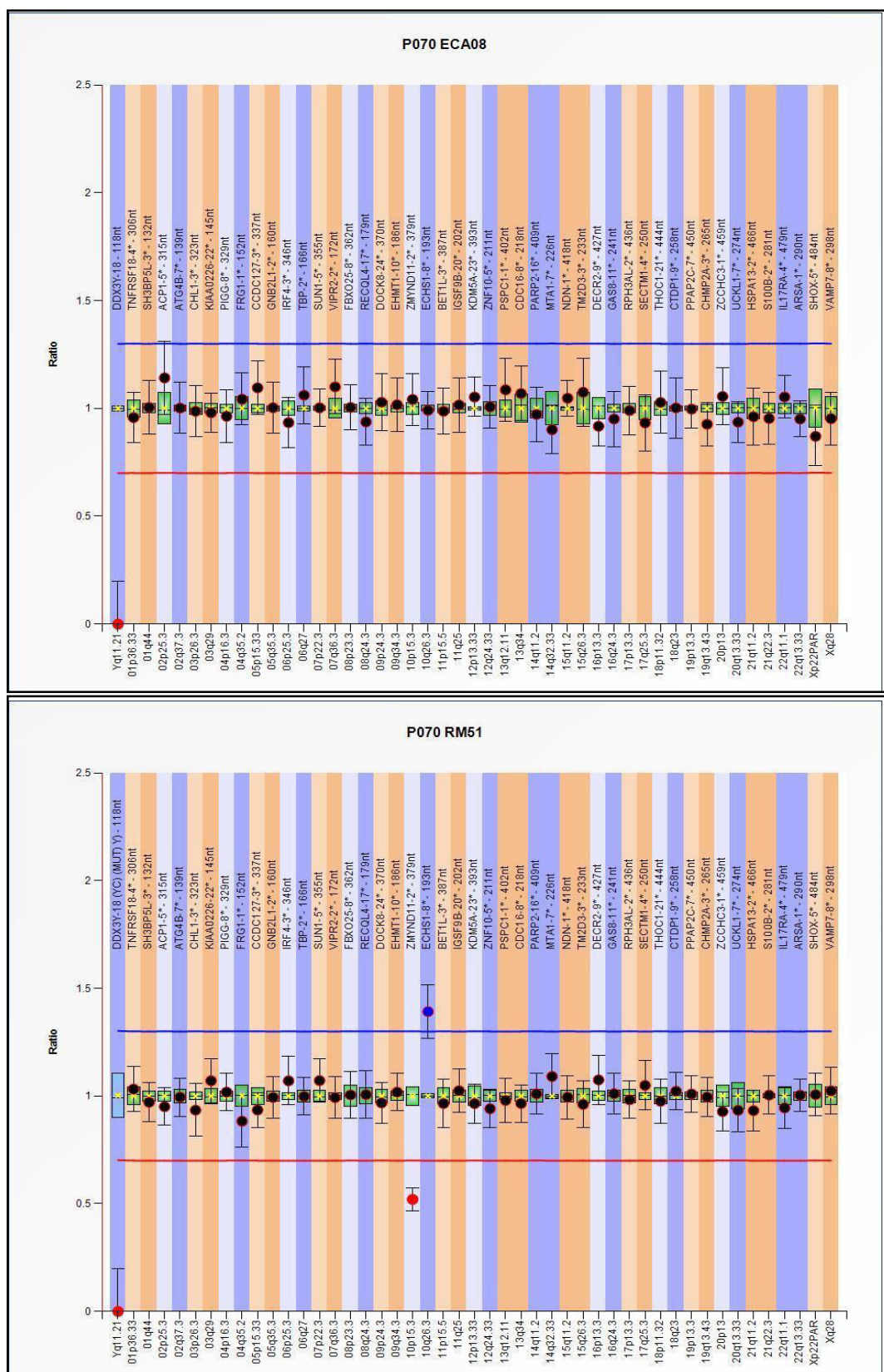
Para este análisis se utilizaron en primer lugar dos mixes de sondas (P036 y P070), que contienen cada una de ellas sondas para todas las regiones subteloméricas y/o pericentroméricas de los 23 pares de cromosomas humanos. Posteriormente en los individuos que presentaron alguna de estas regiones afectadas, se procedió a un análisis más exhaustivo con otras sondas que amplían dichas regiones (véase figura 3). De los 31 pacientes analizados se encontraron 4 con alteraciones subteloméricas, en diferentes cromosomas y/o regiones. A continuación se describen estos cuatro casos analizados:

**PACIENTE RM51:** Paciente de 2 años de sexo femenino, con cariotipo normal, que presenta RM síndrómico ya que clínicamente se observa: dientes Hutchinson, nariz recta, clinodactilia, hipotonía muscular e hiperlaxitud. La prueba de MLPA indica que con ambas sondas para análisis de alteraciones subteloméricas, existe una delección heterocigota en el extremo del brazo p del cromosoma 10 y a su vez una duplicación heterocigota en el extremo del brazo q del mismo cromosoma. Estos resultados se confirmaron posteriormente con los mix de sondas P230 y P286, gracias a las cuales se pueden verificar y además ampliar la región y/o genes que abarcan estas dos alteraciones que presenta el paciente.

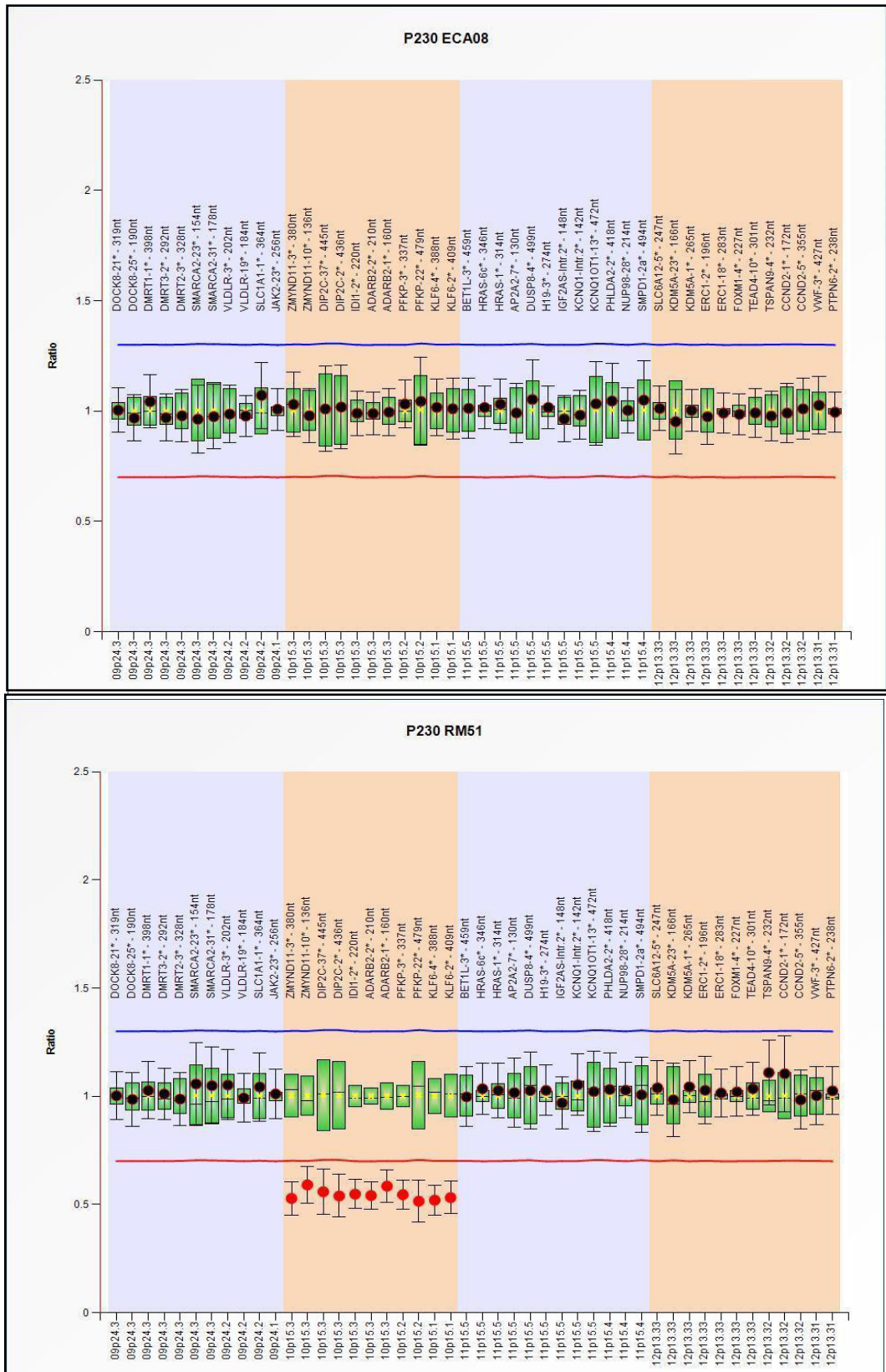


**Figura 9 : Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM51.** Se observan dos diferencias entre el individuo control (ECA08) y el paciente RM51, una es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (punto rojo) en la región 10p15.3 y otra es una duplicación heterocigota detectada por el valor promedio de 1.5 (punto azul) en la región 10q26.3.





**Figura 10 : Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM51.** Se observan dos diferencias entre el individuo control (ECA08) y el paciente RM51, una es una deleción heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (punto rojo) en la región 10p15.3 y otra es una duplicación heterocigota detectada por el valor promedio de 1.5 (punto azul) en la región 10q26.3.

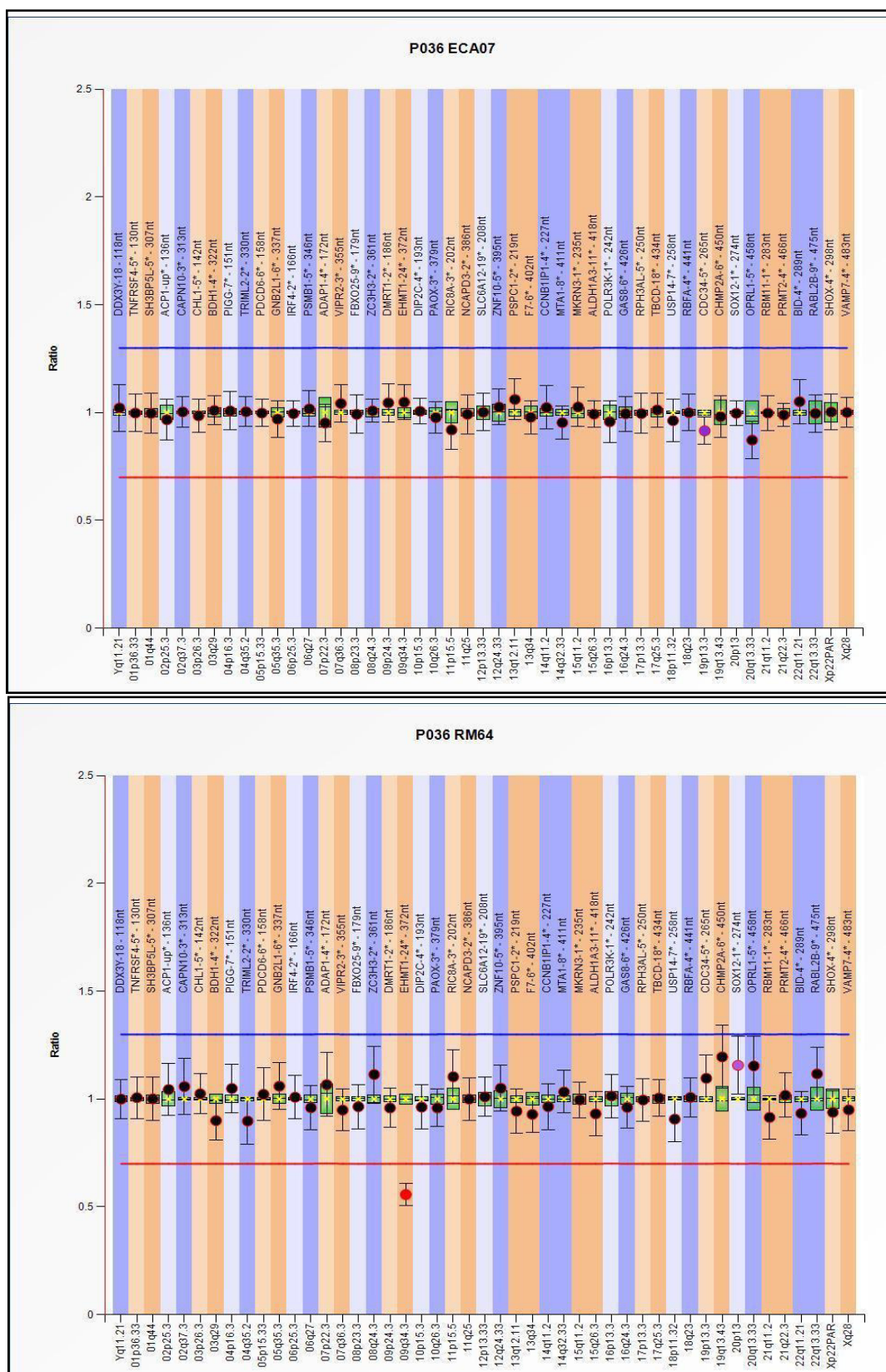


**Figura 11: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P230 para RM51.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA08) y el paciente RM51 que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (puntos rojos) en la región 10p15.1 - p15.3.

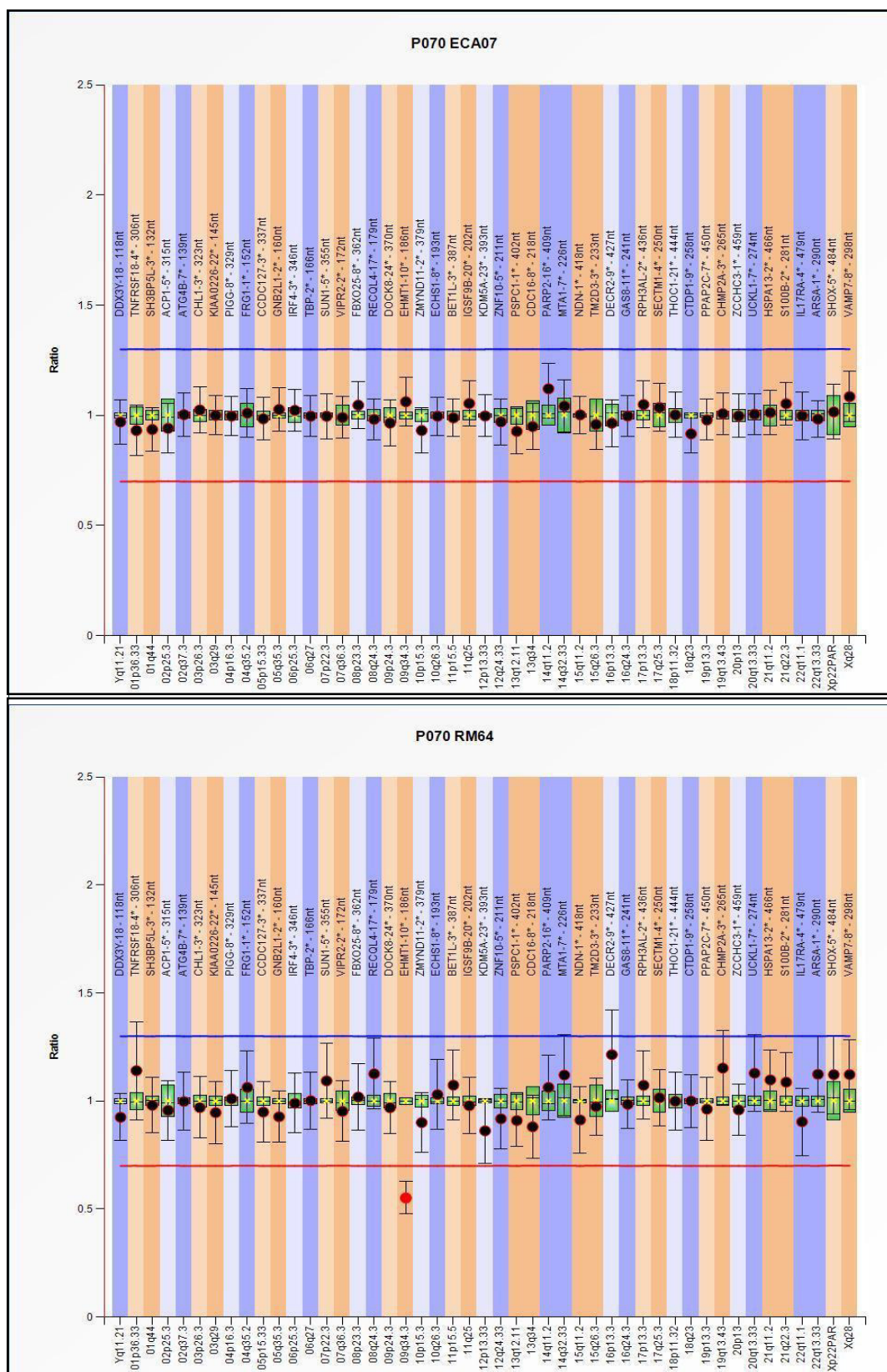




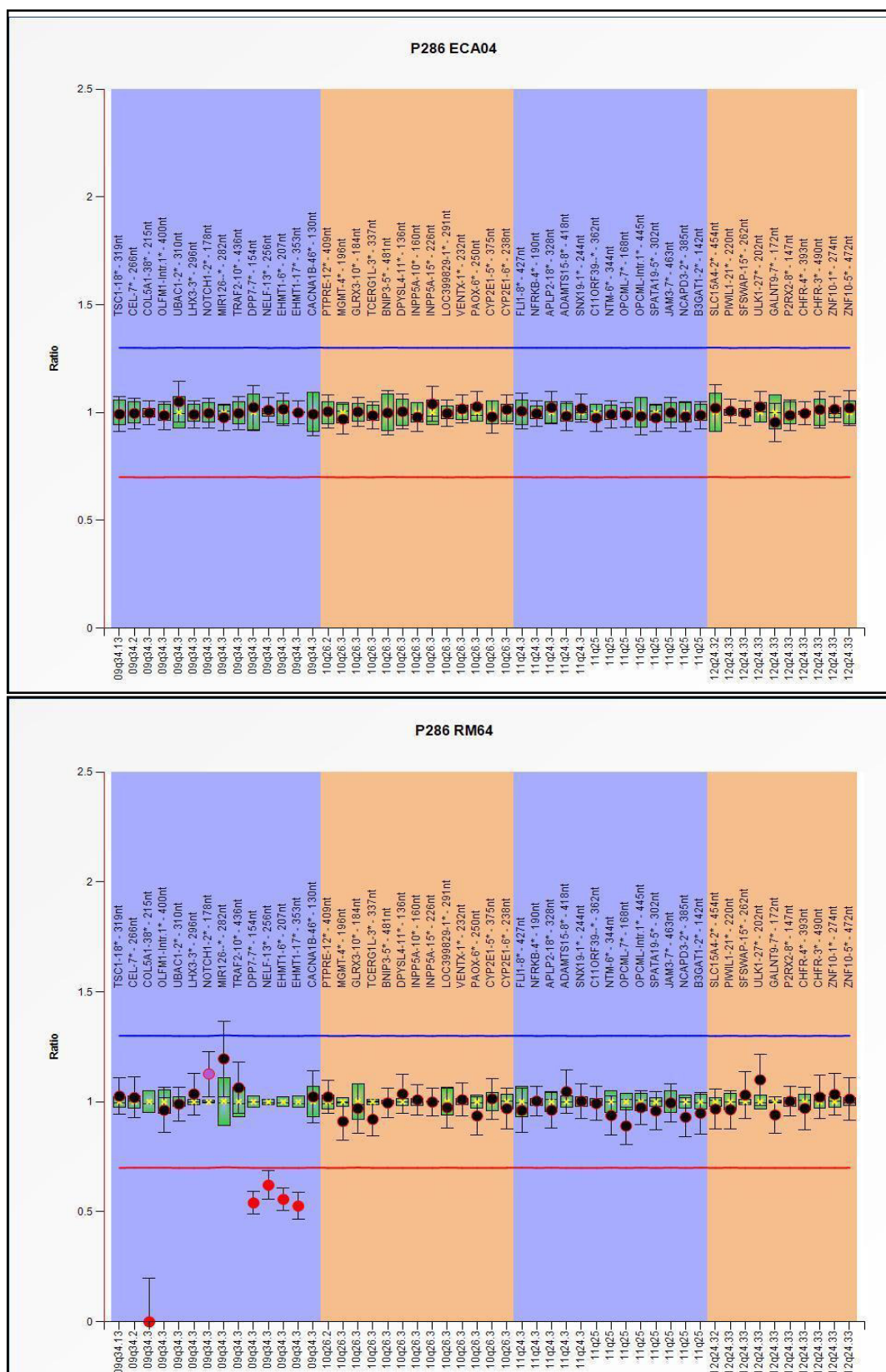
**PACIENTE RM64:** Paciente de 17 años de sexo masculino, con cariotipo normal, que presenta RM sindrómico ya que clínicamente se observa: Ectasia renal bilateral, dismorfia facial, yemas de los dedos prominentes y epicanto bilateral. La prueba de MLPA indica que con ambas sondas para análisis de alteraciones subteloméricas, existe una delección heterocigota en el extremo del brazo q del cromosoma 9. Estos resultados se confirmaron posteriormente con la sonda P286, gracias a la cual se puede verificar y además ampliar la región y/o genes que abarca esta alteración.



**Figura 13: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM64.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA07) y el paciente RM064, que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (punto rojo) en la región 9q34.3.



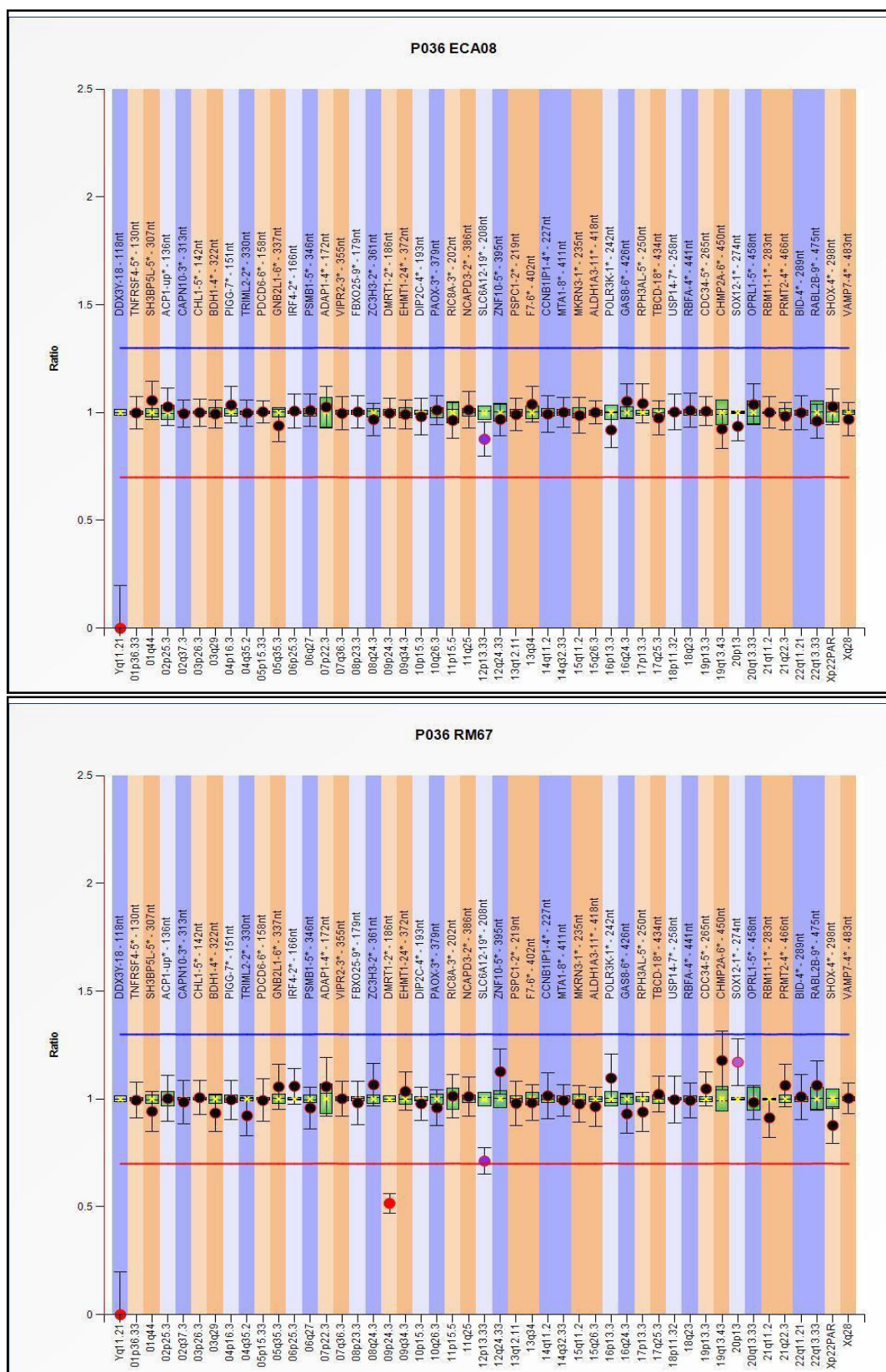
**Figura 14: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM64.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA07) y el paciente RM64, que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (punto rojo) en la región 9q34.3.



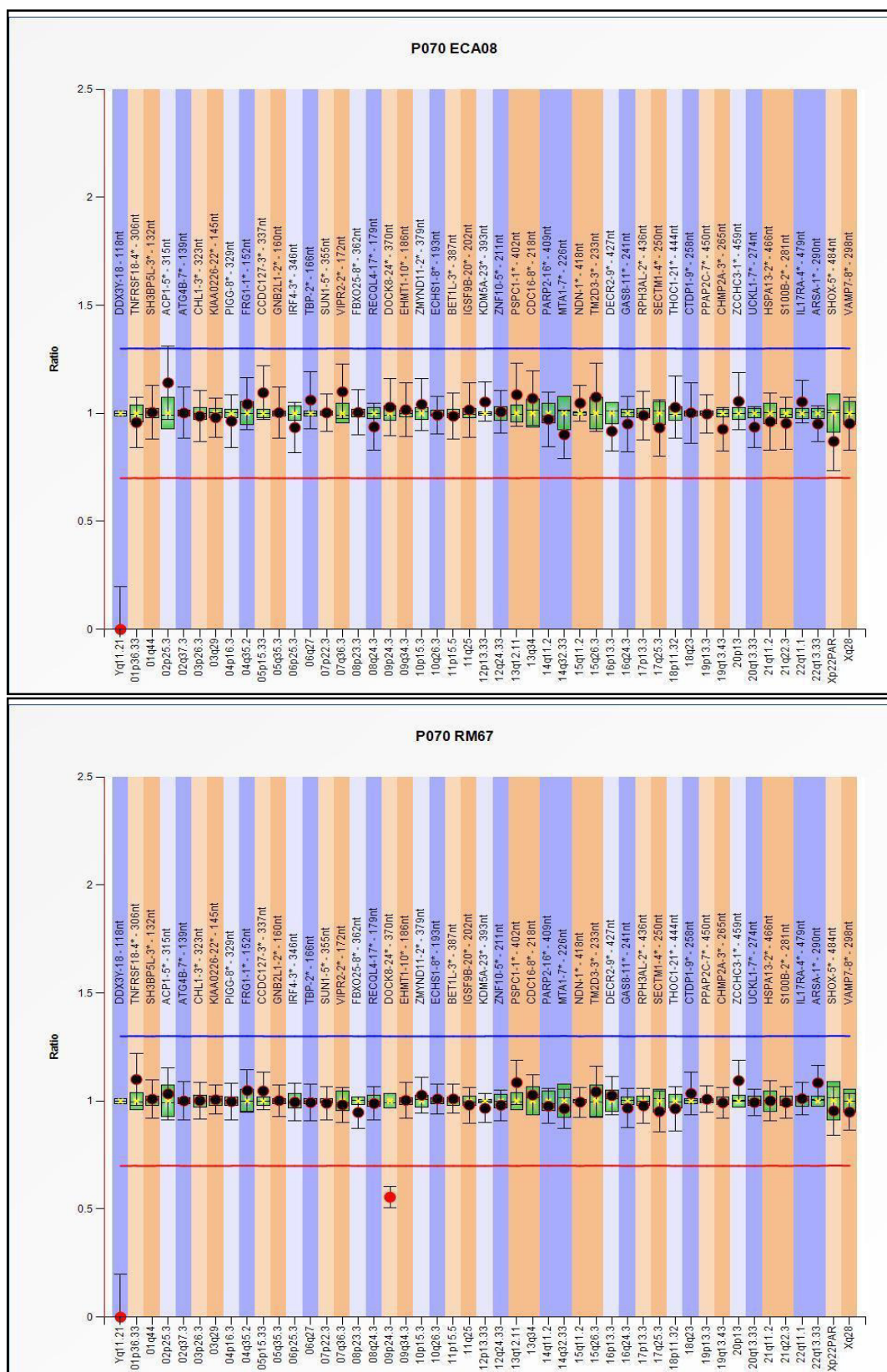
**Figura 15: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P286 para RM64.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA04) y el paciente RM64, que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (puntos rojos) en la región 9q34.3.

**PACIENTE RM67:** Paciente de 2 años de sexo femenino, con cariotipo normal, que presenta RM síndrómico donde clínicamente se observa: hernia inguinal bilateral (operada), hipotonía congénita, nariz pequeña, disfunción del nervio facial conductivo bilateral. La prueba de MLPA indica que con ambas sondas para análisis de alteraciones subteloméricas, existe una delección heterocigota en el extremo del brazo p del cromosoma 9. Estos resultados se confirmaron posteriormente con la sonda P230, gracias a la cual se puede verificar y además ampliar la región o genes que abarca esta alteración.





**Figura 16: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM67.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA08) y el paciente RM67, que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (punto rojo) en la región 9p24.3.

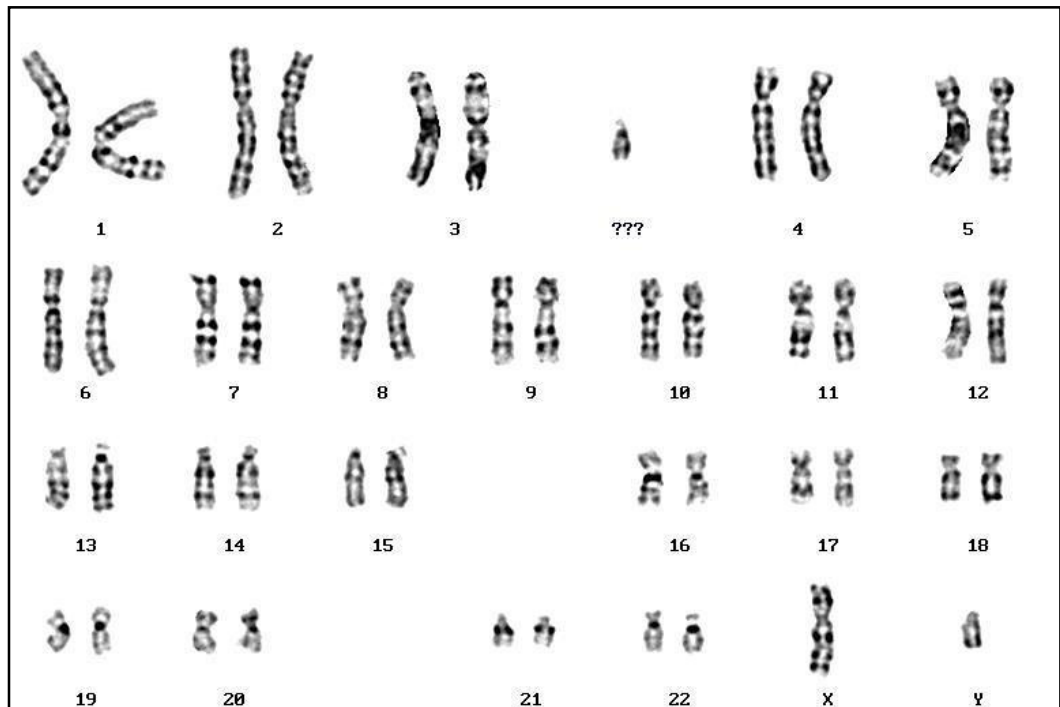


**Figura 17: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM67.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA08) y el paciente RM67, que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (punto rojo) en la región 9p24.3.

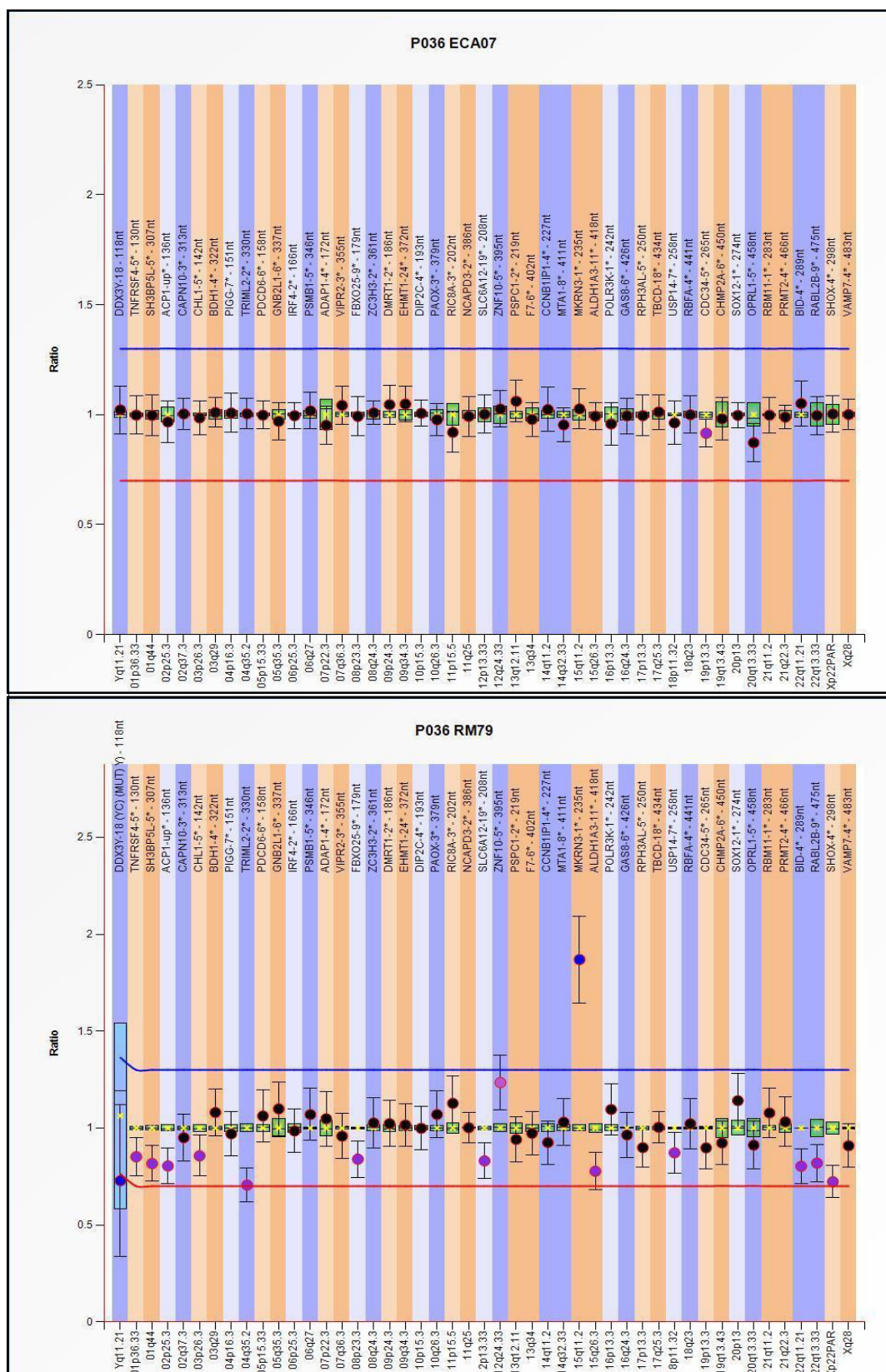




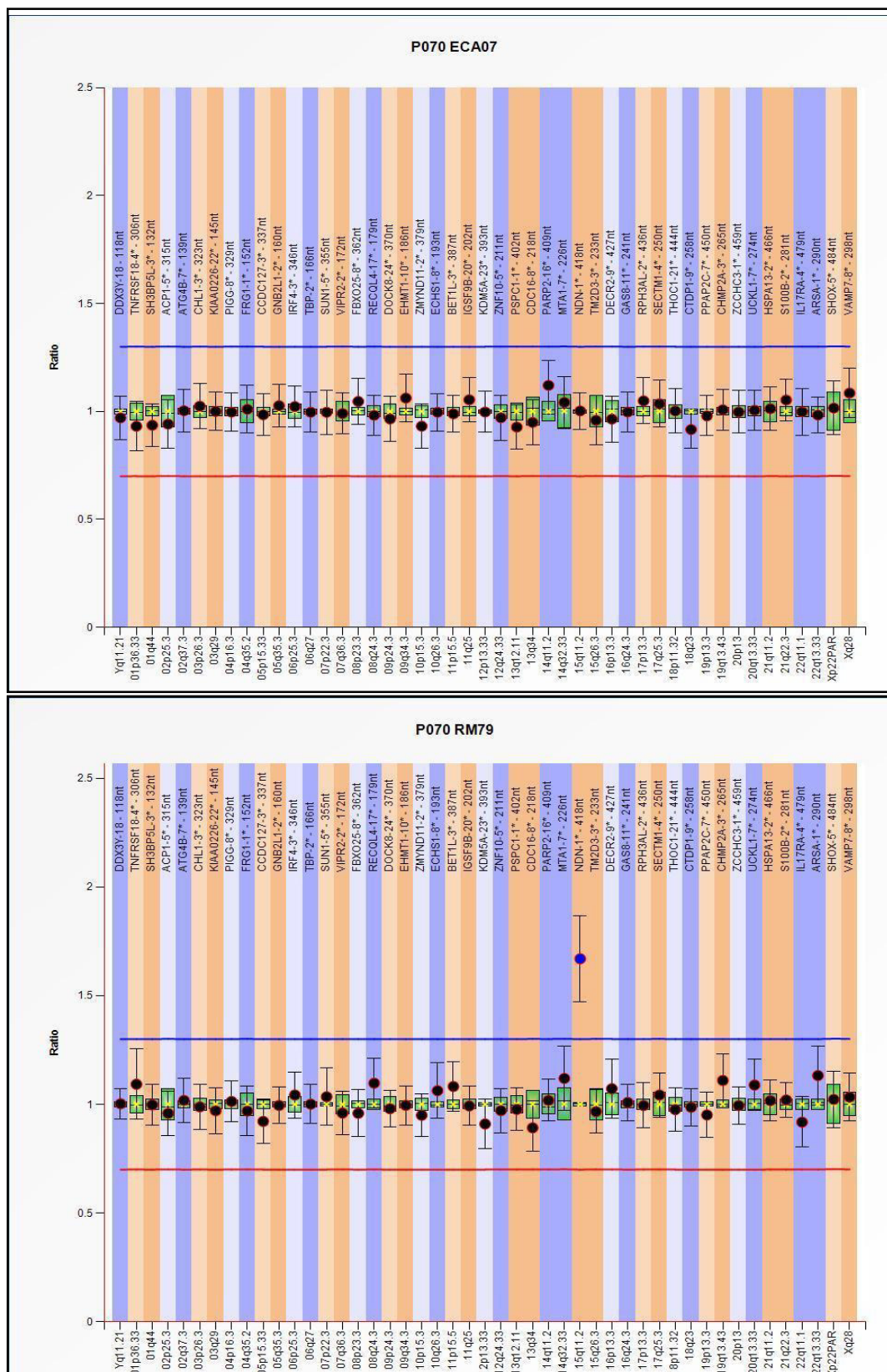
**PACIENTE RM79:** Paciente de 12 años de sexo masculino, con cariotipo 47XY, +mar, que presenta RM sindrómico y donde clínicamente se observa: retardo del crecimiento, fisuras antimongoloides, orejas de implantación baja, hiperlaxitud articular e hipotonía. La prueba de MLPA indica, tanto con las sondas para alteraciones subteloméricas como con las sondas para análisis de microdeleciones/microduplicaciones, que existe una triplicación en la región 15q11.2. Estos resultados se confirmaron posteriormente con la sonda ME028, gracias a la cual se puede verificar y además ampliar la región o/y genes que abarca esta alteración.



**Figura 19:** Cariotipo del paciente RM79. Cortesía del Servicio de Genética - Departamento de Especialidades Médicas. Hospital Edgardo Rebagliati Martins – EsSalud.



**Figura 20: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P036 para RM79.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA07) y el paciente RM79, que es una duplicación heterocigota detectada por el valor promedio de 2 (punto azul) en la región 15q11.2.



**Figura 21: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P070 para RM79.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA07) y el paciente RM79, que es una duplicación heterocigota detectada por el valor promedio de 2 (punto azul) en la región 15q11.2.

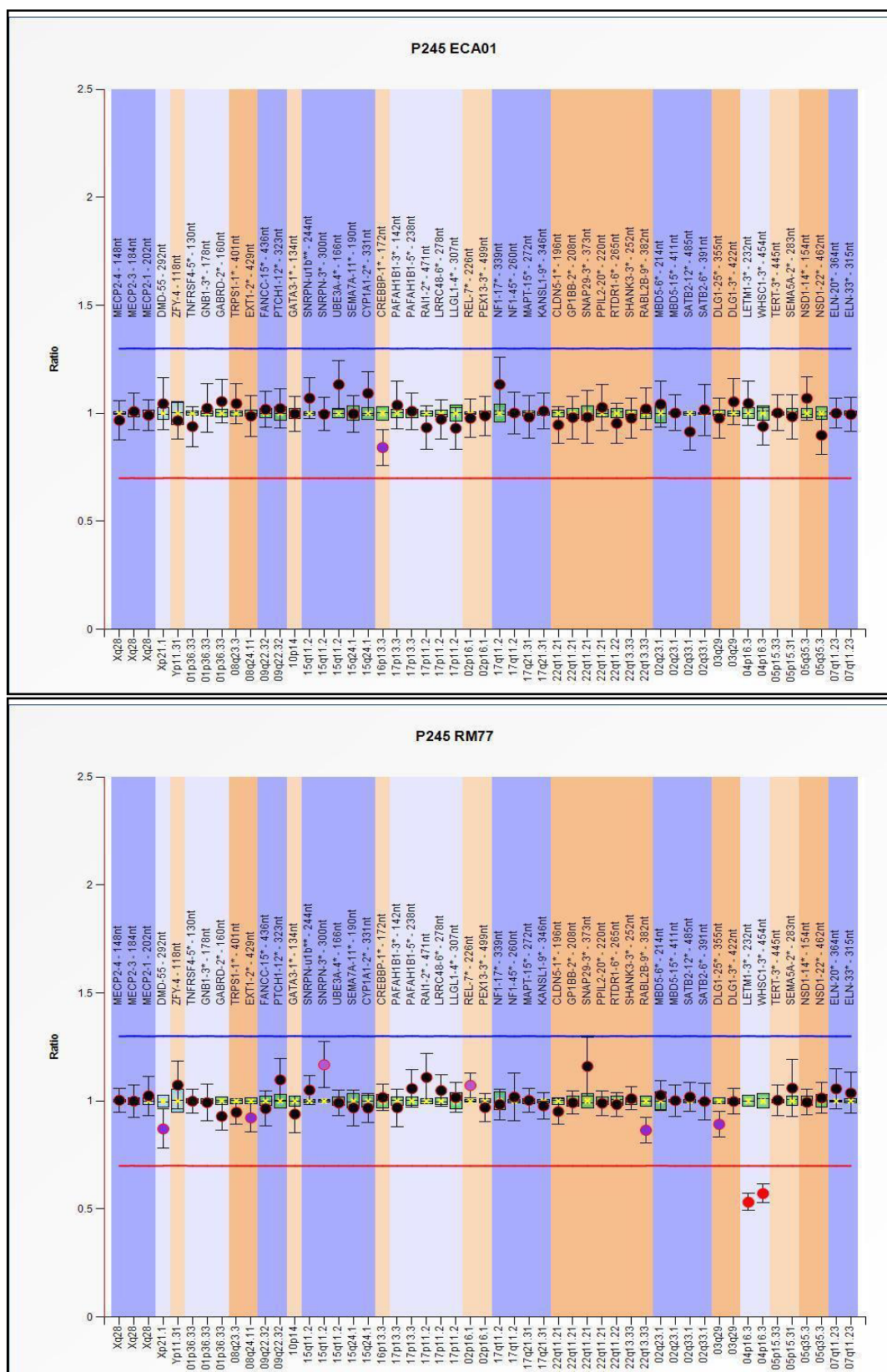




### **6.2.3. Despistaje de síndromes conocidos causados por microdeleciones o microduplicaciones:**

Para este paso se utilizaron dos mixes de sondas (P245 y P064) que contienen diferentes fragmentos para detectar varios síndromes (ver Tabla 6), entre los cuales se encuentra el síndrome de Rett en su forma típica, síndrome que se debió descartar como primer paso en mujeres, pero que por comodidad se realizó después. De los 31 pacientes analizados, ninguna paciente mujer presentó mutaciones para el síndrome de Rett, pero sí se encontró un paciente con una microdelección que a continuación se describe:

**PACIENTE RM077:** Paciente de 14 años de sexo masculino, con cariotipo normal, que presenta RM síndrómico debido a que clínicamente se observa: retraso del crecimiento intrauterino, falla del medro, microcefalia, micrognatia, cardiopatía congénita del tipo comunicación intraauricular, criptorquídea, hipotonía y convulsiones controladas. La prueba de MLPA indica que con ambos mix de sondas, para análisis de microdeleciones/microduplicaciones, existe una delección heterocigota en la región 4p16.3.



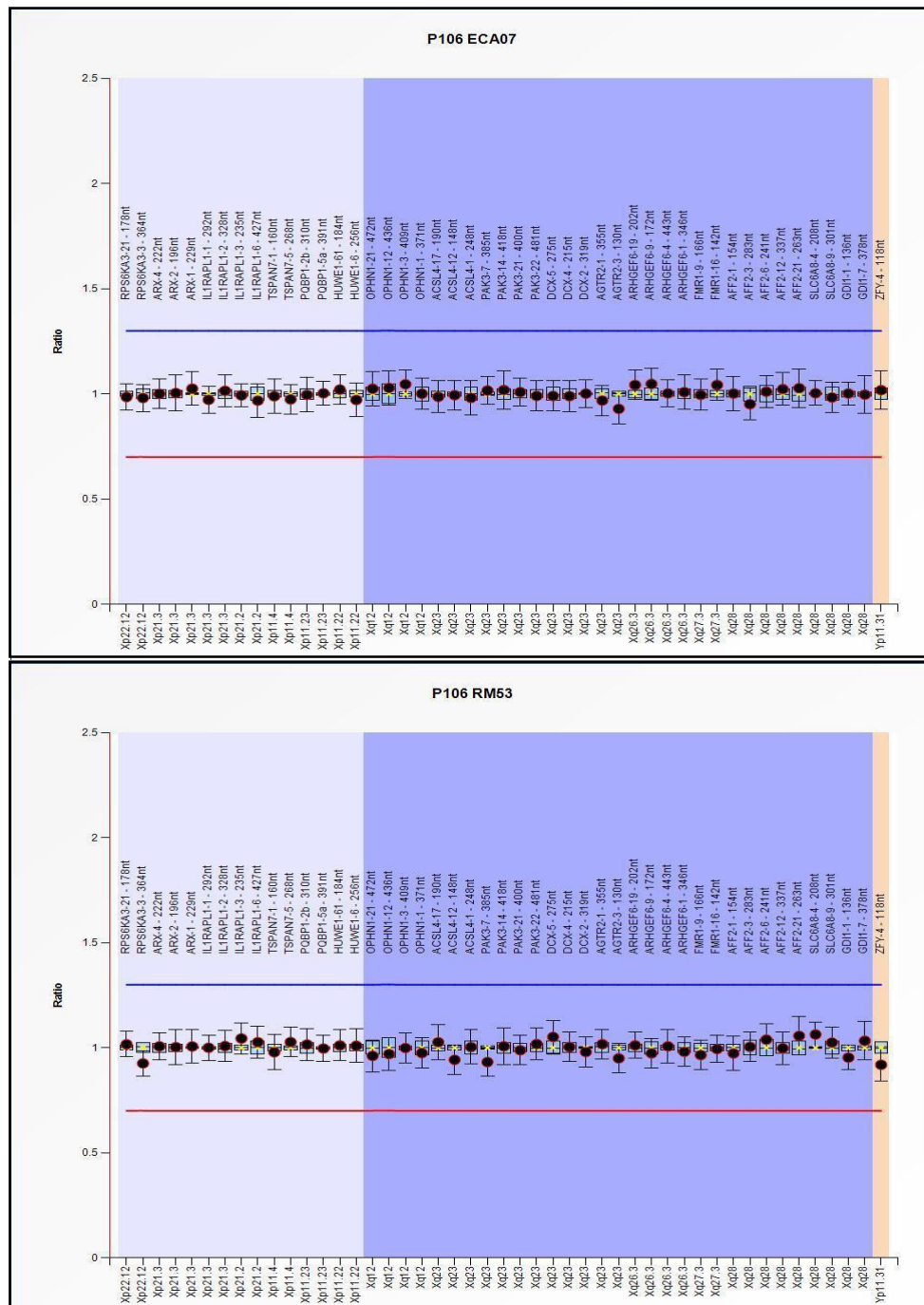
**Figura 23: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P245 para RM77.** Se observa una diferencia entre el individuo control (ECA01) y el paciente RM77, que es una delección heterocigota detectada por el valor promedio de 0.5 (puntos rojos) en la región 4p16.3.





#### 6.2.4. Despistaje de síndromes ligados al cromosoma X.

Este último paso sólo se realizó en varones ya que es casi exclusivo en ellos. La prueba de MLPA se realizó mediante un mix de sondas que contiene diferentes sondas para varias regiones del cromosoma X. De los 30 pacientes analizados no se encontró ninguno con alteraciones de este tipo.



**Figura 25: Diagrama del resultado obtenido con el mix de sondas P106.** No se observa ni en el control (ECA07) ni en el paciente RM53, alteraciones numéricas, ya que todas las regiones analizadas presentan índices alrededor de 1.



## 7. DISCUSIÓN

El diagnóstico de RM idiopático se presenta en un 50% de casos en pacientes que acuden a los Servicios de Genética. Esta alta frecuencia requiere que se establezcan o propongan protocolos que sirvan como un camino efectivo para lograr un diagnóstico preciso.

En el presente estudio, se planteó un despistaje consecutivo de los síndromes conocidos por causar RM, basado en un protocolo propuesto por GIRMOGEN. En primer lugar se realizó el despistaje del síndrome del X-frágil ya que es el segundo síndrome causante de RM luego de la trisomía 21 (Rousseau et al. 1995), y se ejecutó sólo en varones, ya que son la mayoría de los afectados (Mattei et al. 1981). Paralelamente se evaluó solo a las mujeres para detectar el síndrome de Rett, ya que ellas son las afectadas (Percy et al. 2010). El segundo despistaje es el de las alteraciones subteloméricas, que en otras poblaciones se encuentra con una frecuencia entre 3 y 10% (Koolen et al. 2004, Rooms et al. 2004, Ravnan et al. 2010, Palomares et al. 2006, Erjavec-Skerget et al. 2006, Wu et al. 2010). (Ver Anexo 2).

En el tercer paso se realizó el despistaje de las microdeleciones y microduplicaciones más comunes y finalmente se descartan síndromes ligados al X sólo en varones. Cabe mencionar que GIRMOGEN es una institución española, que basa su protocolo en estadísticas para poblaciones caucásicas. En nuestro país, carecemos de esta información y de ahí la importancia del presente estudio.

A continuación, pasamos a discutir cada uno de los *casos*:

### 7.1. Despistaje del síndrome del X-frágil y de Rett

En la muestra de pacientes, no se encontró ningún caso de síndrome de X-frágil. Esto podría deberse a que este síndrome presenta un cuadro clínico distintivo y de alta prevalencia dentro de la población con retraso mental, por lo que los médicos están más familiarizados con estos casos. Cabe resaltar que el diagnóstico molecular se realiza en

algunos hospitales de Lima, sin embargo, estos sólo analizan el número de repeticiones del triplete CGG, y si este es mayor a 200 pues se extrapola que el promotor se encuentra metilado; sin embargo la prueba del MLPA-MS analiza el número de copias del gen (FMRI-AFF2) y además el patrón de metilación, cuya variación puede deberse a la repetición del triplete CGG o a otros factores.

En lo que respecta al análisis del síndrome de Rett, realizado sólo en mujeres, igualmente no se encontró afectadas con este síndrome. En este caso particular el mix de sondas utilizado (P245), evalúa el síndrome de Rett típico. El Centro de Genética y Biología Molecular no cuenta con otras sondas más específicas para analizar dicho síndrome.

## **7.2. Despistaje de Alteraciones Subteloméricas y Pericentroméricas**

En el segundo despistaje se encontró que el 12.9% de los pacientes presentaban alguna alteración subtelomérica y/o pericentromérica, porcentaje que es similar al reportado por Northrop et al. 2005 (18%) y Palomares et al. 2006 (10%). (Ver Anexo 2)

A continuación, se discuten los hallazgos de cada caso:

**PACIENTE RM051:** Este paciente presenta un cariotipo normal, pero los resultados del MLPA muestran que posee a la vez una delección heterocigota en 10p15.3 y una duplicación heterocigota en 10q26.3, lo que hace suponer que podría tratarse de una gran inversión del cromosoma 10, que provoca estos cambios en los lugares de corte.

En estas regiones se encuentran genes detectados por MLPA, que según algunos reportes pueden estar relacionados con el RM que sufre el paciente. En el caso de la región 10p15.3, se encuentra el gen *ZMYND11* que codifica un represor transcripcional que en casos de hemigigosis origina RM leve, comportamiento neuropsiquiátrico y dismorfia facial sutil (Coe et al. 2014). También se localiza el gen *DIP2C*, que se expresa como una proteína implicada en la morfogénesis del axón (Mukhopadhyay et al. 2002). En la región 10q26.3

se halla el gen *ECHS1*, que codifica una subunidad de una hidratasa, cuya deficiencia se relaciona con la acumulación de metabolitos tóxicos (glioxilato), que pueden causar alguna patología cerebral (Peters et al. 2014). El gen *VENTX*, que produce una proteína homeobox represora de la transcripción que podría estar relacionada con el cuadro de RM porque promueve la diferenciación mieloide (Rawat et al. 2010).

Por otro lado varios autores que han realizado tamizaje de pacientes diagnosticados clínicamente con RM idiopático, han reportado con diversas técnicas (MLPA, FISH y CGH), pacientes que presentan sólo una de las variaciones encontradas en este caso, y también han reportado pacientes con dos cambios a la vez compuestas por uno de los cambios encontrados en el presente caso (una delección de 10p15.3 o una duplicación 10q26.3) acompañado de otro cambio (una delección o duplicación) en otro cromosoma. (Rooms et al. 2005, Ravnan et al. 2006, Palomares et al. 2006, Wu et al. 2010). Un caso en particular se reportó en Estados Unidos por medio de la técnica FISH. El paciente era portador de una duplicación del 10p15.3 más una delección de 10q26.3, caso que vendría a ser la inversa del paciente RM51. Por lo tanto, hasta el presente, es la primera vez que se describe este hallazgo en un paciente que presenta RM idiopático.

**PACIENTE RM064:** Paciente con cariotipo normal, sin embargo, los resultados del MLPA arrojan que posee una delección heterocigota en 9q34.3, región que contiene el gen *EHMT1*, que codifica una histona metiltransferasa relacionada con la reorganización de la cromatina y por lo tanto con la expresión de genes. Se han reportado individuos con RM idiopático que presentan haploinsuficiencia de este gen, alteración conocida como síndrome de Kleefstra (del 9q34) (OMIM #610253), caracterizado por RM, hipotonía y algunos rasgos faciales dismórficos como microcefalia, braquicefalia, hipertelorismo, entre otros (Kleefstra et al. 2009). Esta mutación también ha sido reportada en estudios de pacientes con

RM idiopático, como en Estados Unidos se encontraron once individuos con una del 9qter de una muestra de 11688 individuos (Ravnan et al. 2006) y en España se reportó un individuo con una del 9qter de un total de 50 pacientes analizados (Palomares et al. 2006).

Este paciente cumple con tres puntos: es un paciente diagnosticado clínicamente con RM idiopático, presenta una mutación antes reportada en pacientes semejantes y además la mutación ha sido detectada por la técnica MLPA y comprobada con tres mix de sondas diferentes, resultado que apoya la hipótesis de que la técnica del MLPA es capaz de detectar mutaciones causantes de ciertos síndromes.

**PACIENTE RM067:** Este paciente presenta un cariotipo normal, pero los resultados del MLPA indican una delección heterocigota en 9p24, región en la que encuentra el gen *DOCK8*, que se traduce en un factor de cambio del nucleótido guanina. Se han reportado individuos con RM autosómico dominante que presentan una alteración del gen en mención (Griggs et al. 2008). Otro gen en esta región es el *SMARCA2*, que codifica un cooperador transcripcional y de actividad helicasa, relacionado con la remodelación de la cromatina durante el desarrollo de células neuronales madre multipotentes. Se han reportado variantes heterocigotas en individuos con RM (Van Houdt et al. 2012), conocido como el síndrome de Nicolaides-Baraitser (OMIM #601358), síndrome caracterizado además por convulsiones, estatura corta, dismorfia facial y cabello ralo (Sousa et al. 2009). Esta variación también ha sido reportada por otros autores, como en Estados Unidos, donde se encontraron cinco individuos con una del9pter de una muestra de 11688 individuos (Ravnan et al. 2006) y en China se reportaron dos individuos con una del9p24.3 de un total de 451 pacientes analizados (Wu et al. 2010).

Este paciente también cumple con los tres puntos antes mencionados, paciente con RM idiopático, que presenta una variación antes reportada en pacientes

semejantes, variación detectada por la técnica MLPA y comprobada con tres mix de sondas diferentes.

**PACIENTE RM079:** Presenta un cromosoma marcador en su cariotipo (ver figura 19). Los resultados de MLPA muestran una duplicación homocigota (triplicación) de 15q11.2, región relacionada más comúnmente con los síndromes de Prader-Willi y Angelman. Ambos se deben a deleciones o variación de las regiones metiladas (genes impresos). En lo referente a la duplicación de esta región, ya está reportada como un síndrome (OMIM #608636), y se caracteriza por incluir los siguientes síntomas: autismo, RM, ataxia, convulsiones, retraso en el desarrollo y problemas de comportamiento (Bundey et al. 1994, Flejter et al. 1996, Burnside et al. 2011). Entre los genes duplicados se encuentran *GABRA5* y *GABRB3*, este último detectado por MLPA, ambos codifican receptores GABA que podrían ser los responsables del fenotipo y están postulados como los posibles genes causantes del síndrome. (Bundey et al. 1994, Hogart et al. 2007) Esta variación ha sido reportada en pacientes con holoprocencefalia (Bendavid et al. 2007), en pacientes con autismo (Christofolini et al. 2012, Urraca et al. 2013), en pacientes con epilepsia y RM (Mullen et al. 2013).

Este paciente también cumple con los tres puntos antes mencionados, paciente con RM idiopático, que presenta una variación antes reportada en pacientes semejantes, variación detectada por la técnica MLPA y comprobada con tres mix de sondas diferentes.

### **7.3. Despistaje de Síndromes Conocidos causados por Microdeleciones o microduplicaciones:**

**PACIENTE RM077:** Presenta un cariotipo normal, pero los resultados del MLPA indican una deleción heterocigota en 4p16.3, mutación relacionada al síndrome de Wolf-Hirschhorn (Estabrooks et al. 1992). Este síndrome se caracteriza por la deficiencia del crecimiento pre y postnatal, RM variable, convulsiones en etapa infantil y características craneofaciales como nariz en forma de casco romano,

glabella prominente, hipertelorismo, exoftalmia entre otras (Battaglia et al. 2008). En la región 4p16.3 se encuentran, entre otros, dos genes bien estudiados y asociados a este síndrome, ambos detectados por MLPA. El primero, el gen *LETMI* que codifica una proteína transmembrana ubicada en la membrana interna de la mitocondria cuya función es organizar y mantener la forma de las crestas tubulares, montaje de supercomplejos para la cadena respiratoria, morfología mitocondrial normal y viabilidad celular, este gen estaría relacionado con la patogenia de convulsiones (Zollino et al. 2003). El otro gen es *WHSC1*, que se traduce en una histona metiltransferasa, involucrada en la regulación de la expresión de otros genes. Este gen estaría relacionado con la apariencia facial típica del síndrome (Van Buggenhout et al. 2004). Por lo expuesto este paciente también cumple con los tres puntos antes mencionados.

#### **7.4. Despistaje de síndromes ligados al cromosoma X.**

En el descarte del RM ligado al cromosoma X, no se encontró ningún paciente con alteraciones detectables con el mix de sondas P106 que incluye sondas para varios genes relacionados a algunos síndromes (S. Coffin-Lowry, S. de Rett, S. Alport y el S. X-frágil), y otros genes relacionados con RM inespecífico (*IL1RAPLI*, *HUWE1*, *OPHN1*, *PAK3*, *ACX*, *DCX*, *AGTR2*, *ARHGEF6*, *SLC6A8* y *GDI1*). El no encontrarse ninguna alteración puede deberse a varios factores; por ejemplo, a la baja prevalencia de este tipo de síndromes que se encuentra sobre todo en individuos que han pasado primero por un descarte del síndrome de X-frágil. También hay que tener en cuenta que es el 10% de los varones con RM los que presentan una alteración monogénica ligada al X (Stevenson y Schwartz 2002), además de que son 122 genes relacionados descubiertos hasta el 2015 (Greenwood Genetic Center) y la prueba del MLPA sólo evalúa algunos. Además, está el hecho de que el presente estudio cuenta con una muestra muy pequeña (20 varones con retardo mental idiopático), lo que dificultaría un hallazgo.

### **7.5. Capacidad de detección de mutaciones por medio de la técnica MLPA, según los pasos propuestos por GIRMOGEN 2012:**

La propuesta de GIRMOGEN, de realizar un despistaje de los diferentes tipos de alteraciones causantes de RM idiopático, sea síndrómico o no síndrómico, siguiendo una estructura basada en el descarte de las causas más prevalentes hasta las de menor prevalencia, según los datos de esta pequeña población de pacientes peruanos, no es adecuada. Por lo que no se rechaza la hipótesis nula. Sin embargo, si bien es cierto los pasos a seguir no convenientes, la técnica del MLPA sí ha demostrado ser útil en el diagnóstico de ciertos tipos de alteraciones.

Por otro lado, sí se logró la detección de mutaciones causantes del RM idiopático utilizándose la técnica del MLPA, determinándose un porcentaje del 12.9% que corresponde a alteraciones subteloméricas o pericentroméricas y del 3.2% (sólo un paciente) que resultó con una microdelección que da origen a un síndrome ya descrito y caracterizado (S. Wolf-Hirschhorn).

Entonces sabiendo que los pasos seguidos en el presente estudio no son los adecuados, lo que conviene recomendar es, que una vez que el cariotipo ha sido establecido, se busquen alteraciones subteloméricas y pericentroméricas con los mixes de sondas P036 y P070, ya que son las más frecuentes y luego tamizar con P245 y P064 las microdelecciones o microduplicaciones causantes de síndromes ya reconocidos y de mayor prevalencia. Es importante señalar que el diseño de los mixes de sondas (MRC-Holland) corresponde a datos de prevalencia de poblaciones caucásicas, cuyo bagaje genético es diferente al de la población peruana. En ese sentido es muy importante caracterizar la presencia de mutaciones en los pacientes con RM idiopático de nuestro país, pues carecemos de estos datos. Una vez que se estime la frecuencia de estos síndromes, se podría hacer el diseño de mixes de sondas hechas “a medida” para la población peruana.

## 8. CONCLUSIONES

- La técnica del MLPA, que se realiza por primera vez en nuestro país, es útil en la detección de mutaciones causantes de RM idiopático en la población estudiada, y constituye una base para el estudio del RM idiopático en el Perú.
- En la presente población con RM idiopático, dentro de las posibles causas analizadas, se encontró que ningún paciente presenta el síndrome del X-frágil, síndrome de Rett o retraso mental ligado al X; el 12.9% corresponde a alteraciones subteloméricas o pericentroméricas y del 3.2% corresponde a un síndrome por microdelección conocido (S. Wolf-Hirschhorn).
- Los pasos seguidos en el presente estudio según GIRMOGEN 2012, para la detección de mutaciones causantes de RM idiopático sindrómico y no sindrómico, no son los adecuados para esta población; de lo que se desprende que al parecer sólo se deberían realizar descartes de alteraciones subteloméricas y de microdeleciones o microduplicaciones causantes de síndromes bien caracterizados.
- El presente estudio realizado con un grupo de pacientes peruanos, nos permite concluir además que los mixes de sondas para nuestra población se deben de modificar y rediseñar según la prevalencia de las alteraciones (microdeleciones o microduplicaciones conocidas) que previamente se establezcan en la población peruana.
- Este trabajo es un aporte al estudio de las alteraciones que causan RM idiopático y servirá de base para estudios posteriores.



## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amir, R. E., Van den Veyver, I. B., Wan, M., Tran, C. Q., Francke, U., Zoghbi, H. Y. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nature Genet.* 23: 185-188, 1999.
- Battaglia A., Filippi T., Carey J. et al. Update on the clinical features and natural history of Wolf-Hirschhorn (4p-) syndrome: experience with 87 patients and recommendations for routine health supervision. *Am. J. Med. Genet. (Semin. Med. Genet.)* 148C: 246-251, 2008.
- Bendavid C., Dubourg C., Pasquier L. MLPA Screening Reveals Novel Subtelomeric Rearrangements in Holoprosencephaly. *Human Mutation* 28(12),1189-1197. 2007.
- Bundey, S., Hardy, C., Vickers, S., et al. Duplication of the 15q11-13 region in a patient with autism, epilepsy and ataxia. *Dev. Med. Child Neurol.* 36: 736-742, 1994.
- Burd, L., Vesley, B., Martsolf, J. T., Kerbeshian, J. Prevalence study of Rett syndrome in North Dakota children. *Am. J. Med. Genet.* 38: 565-568, 1991.
- Burnside, R. D., Pasion, R., Mikhail, F. M., et al. Microdeletion/microduplication of proximal 15q11.2 between BP1 and BP2: a susceptibility region for neurological dysfunction including developmental and language delay. *Hum. Genet.* 130: 517-528, 2011.
- Campistol J., Málaga-Diéguez I., García-Cazorla A., et al. Errores congénitos del metabolismo con manifestaciones neurológicas de presentación neonatal. *Rev Neurol;* 40: 6-321. 2005.
- Chiurazzi P., Oostra B. Genetics of mental retardation. *Curr Opin in Ped;* 12: 529-535. 2000.
- Christofolini DM., Meloni VA., De Paula Ramos MA., et al. Autistic Disorder Phenotype Associated to a Complex 15q Intrachromosomal Rearrangement. *Am J Med Genet Part B* 159B:823-828. 2012.
- Coe B., Witherspoon K., Rosenfeld J., et al. Refining analyses of copy number variation identifies specific genes associated with developmental delay. *Nature Genet.* 46: 1063-1071, 2014
- Coffa J. y Van den Berg J.. Analysis of MLPA data using novel software coffalyser.NET by MRC-Holland. *Modern Approaches to Quality Control*, ISBN: 978-953-307-971-4, In Tech, 2013.
- Congreso de la República del Perú. Ley N° 29973 "Ley general de la persona con discapacidad". 2012.

Crawford, D. C., Meadows, K. L., Newman, J. L., et al.. Prevalence of the fragile X syndrome in African-Americans. *Am. J. Med. Genet.* 110: 226-233, 2002.

Devys, D., Lutz, Y., Rouyer, N., et al.. The FMR-1 protein is cytoplasmic, most abundant in neurons and appears normal in carriers of a fragile X premutation. *Nature Genet.* 4: 335-340, 1993.

Díaz A. y Oancea R. Retraso mental de origen genético: propuesta de protocolo de estudio (GIRMOGEN). Asociación Española de Biopatología Médica, 2012.

Erjavec-Škerget A., Stangler-Herodež S., Zagorac A., et al. Subtelomeric Chromosome Rearrangements in Children with Idiopathic Mental Retardation: Applicability of Three Molecular-cytogenetic Methods. *Croat Med J*;47:841-50. 2006.

Estabrooks L., Lamb A., Kirkman H., et al. A molecular deletion of distal chromosome 4p in two families with a satellited chromosome 4 lacking the Wolf-Hirschhorn syndrome phenotype. *Am. J. Hum. Genet.*, 51: 971-978, 1992.

Fernández-Carvajal I, Tellería JJ, Alonso M, Palencia R, Durán M, López B, Navarro N, de Diego-Otero Y, Blanco A. Enfermedades autosómicas recesivas con retraso mental. *Rev Neurol* 2006; 42 (Supl 1): S39-S43.

Flejter, W. L., Bennett-Baker, P. E., Ghaziuddin, M., et al. Cytogenetic and molecular analysis of inv dup(15) chromosomes observed in two patients with autistic disorder and mental retardation. *Am. J. Med. Genet.* 61: 182-187, 1996.

Gardner RJM, Sutherland GR. Chromosomal abnormalities and genetic counselling. New York: Oxford University Press. 2004.

Gatta V., Gennaro E., Franchi S. et al. MS-MLPA analysis for FMR1 gene: evaluation in a routine diagnostic setting. *BMC Medical Genetics*; 14:79, 2013.

Griggs B., Ladd S., Saul R., et al. Dedicator of cytokinesis 8 is disrupted in two patients with mental retardation and developmental disabilities. *Genomics*, 91: 195-202, 2008.

Gronskov, K., Brondum-Nielsen, K., Dedic, A., Hjalgrim, H. A nonsense mutation in FMR1 causing fragile X syndrome. *Europ. J. Hum. Genet.* 19: 489-491, 2011.

Guillén-Navarro E, Glover-López G. Causas monogénicas de retraso mental ligado a X. *Rev Neurol*; 42 (Supl 1): S45-S49. 2006.

Guitart-Feliubadaló M, Brunet-Vega A, Villatoro-Gómez S, Baena-Díez N, Gabau- Vila E. Causas cromosómicas que originan el retraso mental: alteraciones cromosómicas diagnosticables en el paciente. *Rev Neurol*; 42 (Supl 1): S21-S26. 2006.

Halder A., Manish J., Chaudhary I., et al.. Fluorescence in situ hybridization (FISH) using non-commercial probes in the diagnosis of clinically suspected microdeletion syndromes. *Indian J Med Res*; 138(1): 135-142. 2013

Hardwick, S. A., Reuter, K., Williamson, S. L., et al.. Delineation of large deletions of the MECP2 gene in Rett syndrome patients, including a familial case with a male proband. *Europ. J. Med. Genet.* 15: 1218-1229, 2007.

Hogart, A., Nagarajan, R. P., Patzel, K. A., Et al.. 15q11-13 GABA(A) receptor genes are normally biallelically expressed in brain yet are subject to epigenetic dysregulation in autism-spectrum disorders. *Hum. Molec. Genet.* 16: 691-703, 2007.

Kallioniemi A., Kallioniemi OP., Sudar D., et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*.30;258(5083):818-21. 1992.

Kirschhoff M, Rose H, Lundsteen C. High resolution comparative genomic hybridization in clinical genetics. *J Med Genet* 38:740-744. 2001.

Kleefstra T., van Zelst-Stams W., Nillesen W., et al. Further clinical and molecular delineation of the 9q subtelomeric deletion syndrome supports a major contribution of EHMT1 haploinsufficiency to the core phenotype. *J. Med. Genet.*, 46: 598-606, 2009.

Knight, S. J. L., Flannery, A. V., Hirst, M. C., et al.. Trinucleotide repeat amplification and hypermethylation of a CpG island in FRAXE mental retardation. *Cell* 74: 127-134, 1993.

Koolen DA., Nillesen WM., Versteeg MH., et al. Screening for subtelomeric rearrangements in 210 patients with unexplained mental retardation using multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA). *J Med Gent* 41: 249-255. 2004

Leonard H, Wen X. The epidemiology of mental retardation: Challenges and opportunities in the new millennium. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*;(8):117-34, 2002.

Mattei J., Mattei M., Aumeras C., et al. X-linked mental retardation with the fragile X: a study of 15 families. *Hum. Genet.*, 59: 281-289, 1981.

Ministerio de Salud – Instituto Nacional de Salud del Niño. Guía de práctica clínica de manejo de retraso mental CIE-10:f71. 2012.

Ministerio de salud, Organización Panamericana de la Salud y la Defensoría del Pueblo, Los derechos y libertades fundamentales de las personas con discapacidad por enfermedad mental, Cuadernos de Promoción de la Salud N°8, 2004.

Moog, U., Smeets, E. E. J., van Roozendaal, K. E. P., et al.. Neurodevelopmental disorders in males related to the gene causing Rett syndrome in females (MECP2). *Europ. J. Paediat. Neurol.* 7: 5-12, 2003.

Mukhopadhyay M., Pelka P., DeSousa D., et al. Genomic organization and expression pattern of a novel *Drosophila* gene, the disco-interacting protein 2 (dip2), and its murine homolog. *Gene*, 293: 59-65, 2002.

Mullen SA., MBBS, Carvill GL., Bellows S., et al. Copy number variants are frequent in genetic generalized epilepsy with intellectual disability. *Neurology*;81:1507–1514. 2013.

Northrop E., Ren H., Bruno D., et al. Detection of Cryptic Subtelomeric Chromosome Abnormalities and Identification of Anonymous Chromatin Using a Quantitative Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) Assay. *Hum Mut*; 26(5): 477- 486. 2005.

Nygren A., Lens S. and Carvalho R. Methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification enables a rapid and reliable distinction between male FMR1 premutation and full-mutation alleles. *Journal of Molecular Diagnostics*, vol. 10, n°6, 2008.

Organización de Estados Americanos (OEA). Convención Interamericana para la eliminación de todas las formas de discriminación contra las personas con discapacidad. 1999.

Organización de las Naciones Unidas (ONU). Convención sobre los Derechos del Niño. 1989

Palomares M., Delicado A., Lapunzina P., et al. MLPA vs mutiprobe FISH: comparison of two methods for the screening of subtelomeric rearrangements in 50 patients with idiopathic mental retardation. *Clin Genet* 69, 228-233. 2006.

Patsalis PC, Evangelidou P, Charalambous S, Sismani C. 2004. Fluorescence in situ hybridization characterization of apparently balanced translocations reveals cryptic complex chromosomal rearrangements with unexpected level of complexity. *Eur J Hum Genet* 12.8:647-653.

Percy A., Neul J., Glaze D., et al. Rett syndrome diagnostic criteria: lessons from the Natural History Study. *Ann. Neurol.*, 68: 951-955, 2010.

Peters H., Buck N., Wanders R., et al. ECHS1 mutations in Leigh disease: a new inborn error of metabolism affecting valine metabolism. *Brain*, 137: 2903-2908, 2014.

Ramos-Fuentes FJ. Evaluación y diagnóstico del paciente con retraso mental de origen genético: protocolos estandarizados de evaluación clínica. *Rev Neurol*; 42 (Supl 1): S93-S98, 2006.

Ravn, K., Nielsen, J. B., Schwartz, M. Mutations found within exon 1 of MECP2 in Danish patients with Rett syndrome. (Letter) *Clin. Genet.* 67: 532-533, 2005.

Rawat V., Arseni N., Ahmed F., et al. The vent-like homeobox gene VENTX promotes human myeloid differentiation and is highly expressed in acute myeloid leukemia. *Proc. Nat. Acad., Sci.* 107: 16946-16951, 2010.

Rooms L., Reyniers E., van Lujik R., et al. Subtelomeric deletions detected in patients with idiopathic mental retardation using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA). *Hum Mutat* 23:17-21. 2004.

Rousseau F., Rouillard P., Morel M., et al.. Prevalence of carriers of premutation-size alleles of the FMR1 gene and implications for the population genetics of the fragile X syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, 57: 1006-1018, 1995.

Sánchez-Díaz, Morales-Peydró, Madrigal-Bajo I. Retraso mental autosómico dominante. *Rev Neurol*; 42 (Supl 1): S33-S37. 2006.

Schalock ER., Borthwick-Duffy BA., Bradley VJ., et al. Intellectual disability: definition, classification and systems of support. AAIDD, ISBN: 978-1-935304-04-3. 2010.

Schouten J., McElgunn C., Waaijer R., et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Research*, Vol. 30, No. 12 e57, 2002.

Shoukier M., Klein N., Auber B., et al.. ArrayCGH in patients with developmental delay or intellectual disability: are there phenotypic clues to pathogenic copy number variants?. *Clin Genet*: 83: 53-65. 2013

Sousa S., Abdul-Rahman O., Bottani A., et al. Nicolaides-Baraitser syndrome: delineation of the phenotype. *Am. J. Med. Genet.*, 149A: 1628-1640, 2009.

Stevenson R.E y Schwartz C.E. Clinical and molecular contributions to the understanding of X-linked mental retardation. *Cytogenet Genome Res* 99:265-275 DOI: 10.1159/000071603, 2002.

Syngelaki A., Pergament E., Homfray T., et al. Replacing the Combined Test by Cell-Free DNA Testing in Screening for Trisomies 21, 18 and 13: Impact on the Diagnosis of Other Chromosomal Abnormalities. *Fetal Diagn Ther*, vol. 35: 174-184, (DOI:10.1159/000358388), 2014.

Tejada MI. Retraso mentalde origen genético. Presentación de la red GIRMOGEN. *Rev Neurol*: 42 (Supl 1): S1-6, 2006.

Urraca N., Cleary J., Brewer V., et al. The Interstitial Duplication 15q11.2-q13 Syndrome Includes Autism, Mild Facial Anomalies and a Characteristic EEG Signature. *Autism Research* 6: 268–279. 2013.

Van Buggenhout G., Melotte C., Dutta B., et al. Mild Wolf-Hirschhorn syndrome: micro-array CGH analysis of atypical 4p16.3 deletions enables refinement of the genotype-phenotype map. *J. Med. Genet.*, 41: 691-698, 2004.

Van Houdt J., Nowakowska B., Sousa S., et al. Heterozygous missense mutations in SMARCA2 cause Nicolaides-Baraitser syndrome. *Nature Genet.*, 44: 445-449, 2012.

Weeber EJ, Levenson JM, Sweatt JD. Genes and proteins involved in cognition. *Mol Genet Hum Cogn* 2002; 2: 91-376.

Wu Y., Ji T., Wang J., et al. Submicroscopic subtelomeric aberrations in Chinese patients with unexplained developmental delay/mental retardation. *BMC Medical Genetics*; 11: 72-78. 2010.

Zollino M., Lecce R., Fischetto R., et al. Mapping the Wolf-Hirschhorn syndrome phenotype outside the currently accepted WHS critical region and defining a new critical region, WHSCR-2. *Am. J. Hum. Genet.*, 72: 590-597, 2003.

## ANEXO 1

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título de la Investigación: TAMIZAJE MOLECULAR PARA IDENTIFICAR LA CAUSA DE RETRASO MENTAL IDIOPÁTICO EN PACIENTES PERUANOS**

**Estimado señor(a):**

El retraso mental (RM) es un problema médico, social y económico en todo el mundo y afecta a miles de familias peruanas. Una gran parte del RM tiene causas genéticas y la ciencia está descubriendo cada vez más genes (pequeños fragmentos de ADN que contienen información capaz de ser heredada, o sea transmitida de padres a hijos) que producen RM. Los exámenes genéticos permiten un diagnóstico temprano que ayudará a tomar mejores decisiones para tratamiento, educación y planificación tanto en la vida del paciente como del grupo familiar. Nuestro objetivo es identificar las alteraciones (mutaciones) en los genes que producen la condición de RM en pacientes peruanos. Se van a utilizar diferentes técnicas para el examen como la citogenética (análisis cromosómico) y biología molecular.

**¿Por qué se está haciendo esta investigación?**

Queremos invitarlo a participar en este estudio, ya que existen muchas causas de RM y generalmente son desconocidas por las familias. Esta investigación se realiza por el interés que tenemos en identificar los genes involucrados en el RM en las poblaciones peruanas. Los genes son fragmentos de material hereditario que tenemos en cada una de nuestras células y que contienen la información que nos dan nuestros padres permitiéndonos heredar por ej., el color de los ojos, el color de la piel, etc. Dada la importancia y trascendencia de los cuadros clínicos relacionados con RM, queremos caracterizar los genes más representativos en la población peruana y poder brindar ayuda al médico tratante y a los pacientes, ya que un diagnóstico preciso permitirá aclarar el pronóstico y las terapias más adecuadas al paciente y a las familias.

**¿Cuál es el objetivo de la investigación?**

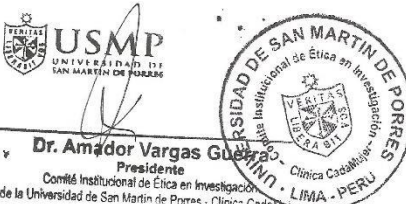
Detectar las alteraciones (mutaciones) presentes en los genes causantes de retraso mental, por medio de técnicas en genética molecular, en pacientes peruanos.

**Entrarán al estudio los participantes elegidos**

- Pacientes diagnosticados clínicamente con algún grado de retraso mental. Los padres o apoderados deben haber firmado el presente documento.

**No participarán en el estudio**

- Pacientes que manifiesten otras enfermedades.
- Pacientes cuyos representantes o apoderados no firmen el presente consentimiento informado.

  
**Dr. Amador Vargas Guerra**  
Presidente  
Comité Institucional de Ética en Investigación  
de la Universidad de San Martín de Porres - Clínica Cardenal

**¿En qué consiste la participación de su hijo o familiar?**

Se le tomará una muestra de sangre de la vena (3 ml) por una sola vez, la misma que se usará para extraer el ADN (que contiene la información de los rasgos hereditarios) mediante estudios en nuestro laboratorio. Se solicitará, si tuviera, exámenes clínicos y moleculares previos, además se verificará antecedentes familiares si fueran conocidos. Su identidad quedará en reserva y solo será conocida por el médico y el personal especializado del centro y no se revelará a otras personas ajenas al estudio.

**¿Qué tipo de exámenes se realizan?**

Los exámenes tienen una duración variada dependiendo del gen y del tipo de mutación. La prueba a realizar es la técnica del MLPA (amplificación múltiple dependiente de ligación con sondas), que permite detectar alteraciones de tipo ganancia o pérdida de genes. También se podrán usar otras técnicas que ayuden a encontrar la alteración. Estos exámenes genéticos se realizarán en el Centro de Genética de Biología Molecular (CGBM) de la Facultad de Medicina de la Universidad San Martín de Porres.

**¿Cuáles son las ventajas de participar en este estudio?**

Muchas formas de retraso mental tienen causas genéticas (hereditarias). Es muy importante para los padres saber cuál es la causa del retraso mental de sus hijos y el diagnóstico molecular podría identificarla. Ello conlleva a pronósticos y tratamientos que son específicos para cada enfermedad genética. El diagnóstico no solo es para los pacientes sino también involucra a posibles familiares portadores que de ese modo podrían tener, si lo desean, una planificación racional de su familia aunque en esta primera etapa solo se estudiará al paciente.

**¿Cuánto tiempo tomará participar en este estudio?**

Solo requeriremos de la participación en una oportunidad para la toma de muestra de sangre. El análisis puede durar algunos meses.

**¿Qué desventajas existen de esta investigación?**

No existe ninguna desventaja aparte del tiempo empleado en los exámenes, de aproximadamente 20 minutos y una toma rutinaria de sangre (3 ml) con las molestias comunes como el hincón de la aguja para la extracción de la sangre, que a veces produce un moretón.

**¿Quién conocerá el resultado y si habrá acceso público a la información?**

El resultado será entregado, si Ud. lo desea, al médico tratante con la respectiva explicación y alcances. Una copia del resultado se entregará al padre o apoderado responsable en este consentimiento, por el médico tratante. La información individual o conjunta del trabajo podrá ser usada en información pública o científica conservando el anonimato (sin revelar la identidad del paciente o su familia).



**Dr. Amador Vargas Guerra**  
Presidente  
Comité Institucional de Ética en Investigación  
de la Universidad de San Martín de Porres - Clínica Católica





**¿Puedo retirar a mi hijo del estudio?**

Sí, puede retirar a su hijo del estudio, solo háganos saber su negativa a participar. No habrá ninguna modificación en su atención rutinaria.

**¿Tendré que realizar algún pago por los exámenes y estudios?**

No, Ud. no tendrá que realizar ningún tipo de pago.

**¿Recibiré dinero por someterme a este estudio?**

No se ha previsto pagos por participar en este estudio.

**¿A quién puedo recurrir para preguntar acerca de una duda o queja?**

Para cualquier duda usted puede comunicarse con:

Dr. Ricardo Fujita A., Director CGBM, FMH- USMP  
Correo electrónico: rfujitaa@usmp.pe

3652300-anx. 152

En caso de queja puede hacerlo con:

Dr. Amador Vargas, Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación de la  
Universidad de San Martín de Porres-Clinica Cada Mujer 335 0483 anx. 160  
Correo electrónico: ética\_fmh@usmp.pe ; avargas@usmp.edu.pe

**Participación voluntaria**

Su participación en el estudio será totalmente voluntaria y si Ud. decide que su hijo o apoderado no participe, éste no se verá afectado en ningún aspecto de su atención, teniendo los mismos derechos como paciente.


**¿Es posible que mi muestra pueda ser utilizada para el análisis genético de otras enfermedades?**

Su muestra será archivada en un lugar seguro dentro del laboratorio de la Facultad de Medicina de la USMP, en condiciones de total confidencialidad y solo se utilizará para estudiar enfermedades que puedan seguir contribuyendo al progreso de la ciencia. De ninguna manera será utilizada para otros fines. El laboratorio se reserva el derecho de destruir la muestra después de un tiempo estimado como máximo de 20 años. Ud. no necesariamente tiene que aceptar que su sangre sea utilizada para otros estudios que no sean específicamente el actual. Por lo cual se le pide se sirva a autorizar el uso o no de su muestra de sangre para estudios futuros.


  
**Dr. Amador Vargas Guerra**  
Presidente  
Comité Institucional de Ética en Investigación  
de la Universidad de San Martín de Porres - Clínica Cada Mujer

**DECLARACIÓN DEL PADRE O APODERADO:**

"He leído y entendido la información prestada y escrita en este documento. También afirmo que he tenido la oportunidad de hacer algunas preguntas y resolver algunas dudas. Por ello, acepto libre y voluntariamente que mi hijo(a) participe en esta investigación"

Nombre del paciente:	_____	
Nombre del padre o apoderado:	_____	
Documento de identidad:	_____	
Firma:	_____	Huella digital: 
Nombre del testigo:	_____	
Documento de identidad:	_____	
Firma:	_____	
Lima ____ de ____ del ____		

"Así mismo autorizo a que si fuera conveniente la sangre de mi hijo(a) puede ser utilizada para el análisis de otras enfermedades hereditarias diferentes del presente estudio"

Nombre del paciente:	_____	
Nombre del padre o apoderado:	_____	
Documento de identidad:	_____	
Firma:	_____	Huella digital: 
Nombre del testigo:	_____	
Documento de identidad:	_____	
Firma:	_____	
Lima ____ de ____ del ____		



**Dr. Amador Vargas Guerra**  
Presidente  
Comité Institucional de Ética en Investigación  
de la Universidad de San Martín de Porres - CIEI



## ANEXO 2

### Tablas con la Información de los Mix de Sondas Utilizados

MIX DE SONDAS ME028					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
130	CTTN	16	11q13.3	GGCTTCCTTCAAGGCAGAGCTGA	GCTACAGAGGCCCTGTGAGTGGGACGGAGCCG
136	DPYSL4	11	10q26.3	TGGGCTCTGACGCTGACCTGGTCATA	TGGAACCCCAAGGCCACCAAGATCATCTCGCCAA
142	SNRPN	CpG isl	15q11.2	CAGGGGGTGTGAGCGCAGGT	AGGTGTATAATAGTGACCACTGCGTGGTGAGCAGGGTAC
148	AATF	11	17q12	TAGGTTTCATGTCTTAGCAAGCTACTGAG	TTTCATGGCACCTATTGACCACTACTACAATGAATGATGATGCCAGG
154	TUBGCP5	8	15q11.2	GGACCAACACTTGTACAGCAGTGATCCATT	GTATGTTCCAGATGACAGGGTTTTGGTTACTGAGACTCAGGTT
160	UBE3A	7	15q11.2	GAAGAAGACTCAGAAGCATCTTCTCAAGG	ATAGGTGATAGCTCAGGGGAGACAACAATTTGCAAAAATTAG
166	CHEK1	4	11q24.2	TGGTCACAGGAGAGAAGGCAATATCCAATATT	TATTTCTGGAGTACTGTAGTGAGGAGAGCTTTTGACAGA
172	MKRN3	1	15q11.2	CCGACATGTGTGGCTGCAGACCT	TGCACCCCATGGATGCTGCCAGAGGGAAGAACATAT
178	SNRPN	CpG isl	15q11.2	CTGCCGCTGTGCAGCGAGTCTGGCGCAGAGT	GGAGCGGCCCGCCGAGATGCCTGACGCATCTGTCTGAG
184	UBE3A	1	15q11.2	TGAGATCCGTGTGTCTCCAAGA	TGGTGGCGCTGGGCTCGGGGTGACTACAGGA
190	SNRPN	CpG isl	15q11.2	CACCGATGGTATCCTGTCCGCTCGCAT	TGGGGCGCGTCCCCATCCGCCCCCACTGTGGT
197	UBE3A	6	15q11.2	GCATCTAATAGAACGCTACTACCACAGTT	AACCTAGGGCTGTGAAATGAAGCCTGCACGAATGAG
202	APBA2	14	15q13.1	CAAAGGGTGTGCCCTCACCACCCACTT	GATTTTTTTCATTTTGCCAAAAAGGGGTATGTCTTTATCAAG
208	COL2A1	46	12q13.11	GGACCTTCTGTCTCTGTCTCTTCTGGAACA	TTCTTCTCTGAGCCTGAGACCTCTCTCTGACAGGGT
214	SNRPN-HB2-85	SNO	15q11.2	TTCTGGTGACCAATGTGCAAGGGTA	GGCTGAAGAGGCTTTCACGTTTTGCCCGACACCTAT
220	GABRB3	12	15q12	CCTAGCGGCAATTGGCGATACCAGGAA	TTGAGCAATATCCTTTGACAACCTAGGAATCCAGTACAGGAAA
226	ATP10A	1	15q12	CATGGATCCTTTGGATTTTGATCCAG	TTGATCCCTGGAGTAAGGTCCTAACCCGGGT
232	VAT1	6	17q21.31	GCTGATGCCATGAAACAGATGCAGGAGAA	GAAGAATGTGGGCAAGGTCTCTGTTCCAG
238	SNRPN	u1b*	15q11.2	GATGTGGCCAGCTCACCACCACTGA	TGAAAGATACACCACAGGGTGAGAGCATCTTAACAGCAAAAC
244	DNAH5	59	05p15.2	GTTCAAAGGAAAGTCAGTGCTGTGAAAAT	TGACCTGGAAGAAAGCTGTACCATGCCCTCCTGGCAG
250	SNRPN	CpG isl	15q11.2	GGAGGGAGCTGGGACCCCTGCA	CTGCGGCAAAACAGCAGCGCTGCGCGCGCCGC
256	SNRPN	u5	15q11.2	CCTTGGTTTGGCGGAGAAAGATCTGCA	TTTCGAACAAGTGCCAGGACTGGTCTGAGGAACACAGT
264	CYP3A5	2c	07q22.1	GAATTCCAGGGCCCAACCTCTGCCTTTTG	TTGGGAAATGTTTTGTCTATCGTCAGGTGAGTTGCTTGAAGCTT
270	SNRPN	Intr. u2	15q11.2	GATCAGGGATTTGAGAAGAGGGGATTCAGA	TGACAGAGAACATCCCAAGGGAAGCAGAATCCAATATAGAG
278	SNRPN	Intr. u2	15q11.2	CACAGAGATCTGGGAGAGCTGACTTTGGTGAAA	ATTCTCACCTTGCAAGGCTGTGTCTGTTTCCAGAATCCTA
287	SNRPN	u1b	15q11.2	CGACCTTGCCCCCGCAACCA	CACAGAAGGCTCTGAGCTCAGCTACAGTGGCTGC
294	SNRPN	3	15q11.2	CCTGGTTTTTGCTTGAATCAGATTCTCGCTA	CTCCAATATGGCTTAAACCCCTTGGTGCTCAGCTAAGAA
301	UBE3A	8	15q11.2	CCTGAAAATCCTGCAGACTTGAAGAAGCAGTTG	TATGTGGAATTTGAAGGAGACAAGGAGTTGATGAGGGAGGTG
309	NF2	13	22q12.2	GGCAGATCAGCTGAAGCAGGA	CCTGCAGGAAGCAGCGAGCGGAGCGAAGAGCCAGCAG
319	CHEK1	2	11q24.2	CACGACAAAATGGTCAGGTTAGAATAGTTGT	TCGTGGTTGAAAGACTTGGATAAATGTGGATGAGATAGAAG
328	SNRPN-HB2-85	SNO	15q11.2	GGTGATGATACTCCAGGTGGGAATGAGAA	AGCGCCATACATGTGTTGACTGGTACCCCTAAGA
337	DLEU1	down	13q14.3	CAGGAGGTTGTTGCTGTACTCCCTTGT	ACAGTTAGCTGTCTAGTGCTGAATGCCTAATTGTCCTTT
346	BLM	1	15q26.1	CCTGCGGGGTCGCGGTACAGCGC	CGGGAGGGACGCGTATCTCCAAGCCCAATCAGAGTC
355	UBE3A	13	15q11.2	CGGAGTTCTGGGAAATCGTTATTCATTTAC	AGATGAACAGAAAAGACTCTTCTGCAGTTTACACGGGCACA
366	ATP10A	5	15q12	CGAGAGGCAGATGAACGCGACGT	GCTCTGGTGTGCTCTGCTCTTGTGTCATGTCT
373	UBE3A	5	15q11.2	CAGGAGAACCCTCAGTCTGACGACATTG	AAGCTAGCCGAATGTAAGTGTAACTGGTTGAGACTGTGG
382	GABRB3	10	15q12	CTGAGCTTTCGGTTGAAGAGGAACATTGGA	TACTTCATTCTCAGACTTATATGCCCTCTATCTGATAACGA
391	SNRPN	u5	15q11.2	GAAGTGGCATATATCCAAGGACAGCCATAA	TATCCACTTGGCCAAGGCTCTTCTGACAGGCTCATG
400	SNRPN	7	15q11.2	GCGAAGCAACCAGAGCGTGAAGAA	AAGCGGGTTTTGGGTCTGGTGTGCTGCGTG
409	MAGEL2	1	15q11.2	GCATTCTGGAACACAGCAAGATGCTT	GTCTGAGGTTTTTGCCAAAGCTCCATAAGAAAGATCCAC
419	NDN	1	15q11.2	CCTTGCCAGACGGCGCAGACAT	GTGAGAACAAAGTAAGGATCTGAGCGACCCCTAAGTTGAGGCC
427	DPYD	14	01p21.3	CAATATGGAGCTTCGGTTTCTGCCAA	GCCTGAACCTACCCCTCTTTACACTCTTATGATCTGGTGG
434	NIPA1	4	15q11.2	CCAGTGGCTGTTGGCCAGATTGGA	ACTTCTGGCTTACAGCGCGTCCCCACGGTCTGG
445	NDN	1	15q11.2	CGAAGGGTGGGGTGGGTCAATTAT	AGTATTGAGATTTACAGTGCAGTATTCAGGTGAACCTTT
454	SLC6A5	16	11p15.1	CTGGGGCCCATCTTACGCTCA	ACACCGCGGGGAGCGTTACAAGAATCATGATCGAC
463	MLH1	1	03p22.2	CTGCTGAGGTGATCTGGCGCAGA	GCGGAGGAGGTGCTTGGCGGCTCTCAGGCTCCTCTCT
472	SNRPN-HB2-85	SNO	15q11.2	GGTCACCTGCATGCTTACATCCAGGCCAG	AGTGCTCTGTGTGACCTCTGTGTTATGAAGACATACAGTTG
480	BRIP1	20	17q23.2	CCAACACCTGAGCTCGGGTCATCAGAGAATA	GTGCTCTAGTCTCCCCGTTTCAAAACAGAGAAGATGGAAA

MIX DE SONDAS ME029					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
118	ZFY	4	Yp11.31	TTCCAAGATGTTGTTGAAGATGTTGTCATAGAGGAGG	ATGTTCAGTGCTCAGATATCTTAGAAGAGGCAGATGTA
129	AR	1	Xq12	CGAGGCCAGCACCATGCAACTCCT	TCAGCAACAGCAGCAGGAAGCAGTATCCGAAGGC
136	MTM1	3	Xq28	TGTTTCTAGACGTCTCGAGATGGAGTCAA	TCGAGATCTCACTGAGGCTGTTCCTCGACTTCCAGGAGAAA
142	FMR1	1	Xq27.3	CTGTTGGAAGCCCCCTCCGACTCCGA	GAGGCCCTAGCGCTATCGAAATGAGAGACCAGCGAG
148	AFF2	1	Xq28	CCGCGACATGGAGCAGGCACGTTA	TCATCCCCGGATCTGGCAGGGGCTGCGCGCGCCC
154	AFF2	1	Xq28	CCTTTGTTAAGAGGAGCTGAAGCTGTCGT	GGGGGGCGCCCCGGACTCCCTCCCACTTGCTC
160	FMR1	1	Xq27.3	GGTGCGGGGCTCCAATGGCGCTT	TCTACAAGGTACTTGGCTCAGGGCAGGCCCATCTTC
167	FMR1	Intr.1	Xq27.3	CCTCTGCGAGCGCCAAGAGGGCTTCA	GGTCTCCTTTGGCTTCTCTTTCCGGTGTAGCAATTGGGACT
172	CDKL5	13	Xp22.13	TCAGCTGACAGATACTTGACAGAACAGTGT	TTGAATCACCCATACATTTCAAACCCAGAGACTCTGGATCGTT
178	FMR1	1	Xq27.3	CCTCCCAACAACATCCCGCGGAGCGTGCCCT	GGCACCAGGCGCGGTGCTCGGGAAGAGG
184	FANCB	1	Xp22.2	CCAGACCCAGGCGTCCGCATT	GGATTGGGCGGTGCGGCGGCGCTTCTGTCCGCCT
190	FMR1	1	Xq27.3	CCAGCGGGAAGGGCGAAATCGGCGCT	AAGTGACGGCGATGGCTTATCCCCCTTCTCTAAACATCA
195	FMR1	1	Xq27.3	CCTTCAGCCTTCCGCGCTCCACCAA	GCCCGCGCACGCCGCGGCCGCGCTGTCTTTTCG
202	AFF2	Intr.1	Xq28	CTCCGCCACCTCCATCCCTGCGCT	GCGCGCGCGCACACCTTTCCTTCTGCCAGTCAAGCC
208	F9	6	Xq27.1	GGGACTTCACTCGGGTGTGGTGGAGAAGAT	GCCAAACCAGGTCAATTCCCTTGGCAGGTACTTTACTGATG
212	FMR1	1	Xq27.3	CCTTCCGGGGTTCGGCCTCAGTCA	GGCGCTCAGTCCGTTTCGTTTCACTTCCGGTGGAG
220	AFF2	21	Xq28	GACAGGAACACTCCATCCCGAGTGTCTCTCA	ACAACGTCTCCCCATCAACGCAATGGGGAACGTGAAC
226	FMR1	3	Xq27.3	GCTTATTTACAGCTGGCAGCCTGATAGGCAGA	TTCCATTTATGATGTGAGATTCACCTCTCTGTAGGT
232	DMD	48	Xp21.1	CAGCTTGAAGACCTTGAAGAGCAGTTAAATCAT	CTGCTGCTGTGGTTATCTCTATTAGGAATCAGTTGAAATTT
238	AFF2	6	Xq28	CCTGGCCTACTCCTCTCACTTCCATG	CATACTGCTGGACACTCTGAGCAGACACCTTTTCCAT
245	AFF2	1	Xq28	CGGACCCGAAAGCGTCGCTTT	GCGCTCCAAGTCTAAAGAGTTGCATTGGCTCACATCGAA
259	AFF2	1	Xq28	GGAGCACAGGACCCAGACACTCCA	GCGCCCGCTGCTGCTGCCGATGCGGCCCGGACAC
265	COL4A5	23	Xq22.3	GATCTCTTGGTTTCCCTGGACAGAAA	GGGGAAAAAGGACAAAGCTGGTGCAACTGGTCCCAAGGATT
274	STS	3	Xp22.31	CGATCAGGTAACCTCCTATCTGCATC	GCAGGGGCTGTGGTCACTTCGGGACAGT
283	AFF2	3	Xq28	GTGGTCACTGATAGTCAATAACCCTA	GCACGTACTGGCAAGCCAGGCCAGTGGTCAG
292	FMR1	17	Xq27.3	GCGCACGGGTAAGATCGTAACCCAGAA	GAAAGAGAAGCCAGACAGCGTGGATGGTCAGCAACCACTCGTG
301	AFF2	5	Xq28	CTCACCCGCAAGATTTCTTCAACACA	GCTTGGATCACTGGGAAGGCTTACCTGAAACAAAATAAACAGAA
310	IDS	5	Xq28	GAGCAAGCCATACAGTTGTGGAAAGAT	GAAAACGTCAGCCAGTCTTCTTCTGCGCGTGGGT
319	FMR1	5	Xq27.3	CATCCCAACAACCTGCCACAAAAGATACT	TTCCATAAGATCAAGCTGGATGTGCCAGAAGACTTACGGC
328	GPR143	4	Xp22.2	CGGGCTGCCTGGGGCGCTGGAGT	CCCAACTTACCTGGACACGGAAGGGTAGTAGCATGGCGG
337	AFF2	8	Xq28	GGAGATCCAACACTACAGATTTGAAAGACACT	GACTTTGTAGAAGCTCTGGTGGTGGGTCACTTCACTCTG
346	MTF	11	03p13	CTCGGAAACTTGATTGATCTTTATGGAAG	CCAAGGTCTGCCCCACCAGGCCTCACC
355	AFF2	9	Xq28	GATGACCTGAAGCTGAGCAGTGATGAAGAT	GACCTTGAGCCTGTGAAGACCTTGACCACTCAGTGCA
364	FMR1	7	Xq27.3	CCCTCAAAGCGAGCACATATGCTGAT	TGACATGCACCTTCGGAGTCTGCGCACTAAGTTGTCTCTG
371	OPHN1	1	Xq12	CGGGCTGCGGTTTTTGTGCTATCT	GGGAAGGCGATGCCTAAGGGACATGCTGCTGTAGGC
382	FMR1	15	Xq27.3	CTGACCACAGAGACGAACCTCAGTGAT	TGGTCATTAGCTCCAACAGAGGAAGAGAGGGAG
391	HDHD1	3	Xp22.31	CAGATTATAATAGACGTCTTGACGCTCCC	GATGTCCAAAGAGGAGCTGGTGGAAGAAAGCCAAACGA
400	FMR1	9	Xq27.3	GTAGGATCAGGATGACGTGAAAAAGCTAGAAG	CTTCTCGAATTGCTGAAGATGTAATACAAGTTCAAAGGAAC
409	AFF2	11	Xq28	CCTGCCACAGAGGTGCTCATTAGA	TTCGCTGTAGTGGTGTACTTTTCAAGTGTGTAATCCGACT
418	FMR1	14	Xq27.3	GAAGTAGACCAGTTGCGTTTGAGAGAGA	TTACAAATTGATGAGCAGTGGCAGAGATGGAGTAGTGTCTAGAC
427	IL1RAPL1	6	Xp21.2	GTTGTTGTTTTTTCAGCCCTCTGACTGATA	AGCCACCAAGCTTTTGTATCCTATGGAAAGTAAACTGAC
436	AFF2	15	Xq28	CCTCTGCCACCATCACTGTCAACATACTGCTA	TTGCCACTGTACTGTCACTGCTACTGCCATTGTCAACACCAC
445	FLNA	29	Xq28	CCAAAGACAACCATGACGGCAGTA	TACAGTGGCTACGTGCGCAGAGTGACAGGTGCGCTACCATC
453	RARB	1	03p24.2	GGCGGAGGGCAGCGGGCGCA	GGCGGAACACCGTTTTTCAAGCTAAGCGCGCGCAATAAA
463	EME1	1	17q21.33	CCGAAAGCATGGCGTGGTGGTGT	TGGCGCTGAGGACCCGACAGCCGGTAAATGGGACGCAGTA
472	OPHN1	21	Xq12	CAAAACCCGAATGGTACTATCACCAGCAG	CATAGAAACCCCAAGCCACCACAACACCCCAACTAC

MIX DE SONDAS P036					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
118	DDX3Y	18	Yq11.21	GTTTATTCTAACCTAGGCAAACGGCATGCT	ATCACAAGAAAGGTTTAAAGCTTTGATAAAATGGGGGAGATTTTCAT
130	TNFRSF4	5	01p36.33	GCACACCCCTGCAGCCGGCCAGCAA	TAGCTCGGACGCAATCTGTGAGGACAGGGACCCCCAGCC
136	ACP1	1	02p25.3	TCCTGCCCTTCCTCTTCTCCAACGTAA	GAGTGTGATCTTGGTACAGAGCAGTTCCACACATGCCACACTGG
142	CHL1	5	03p26.3	GACCATCGGATAATTCCATCGAACAATTCA	GGAACATTGAGGATCCCAACAGGGGGCACAATATCTCACTTT
151	PIGG	7b	04p16.3	CATCAGACTGTACTTGGAGGAAAGCATTACAG	AAGTCCTATTCAACCTGGGCTCCAGGTTCTCAGGCAGTACCTG
158	PDCD6	6	05p15.33	CGGCTGGATTGAGGTGTGTGACG	AACAGTACCTGTCCATGGTCTTCAGTATCGTATGACCCCTGGCCTC
166	IRF4	2	06p25.3	GCGGAGAGTTCGGCATGAGCGCG	GTGAGTGC GGCAACGGGAAGCTCCCGCAGTGGCTGATCGAC
172	ADAP1	4	07p22.3	CTCOGGGCAAAGTACGAGCGACAGGA	GTTTCATCTACCCGAGAGAAGCAGGACCCCTACTCGGCAG
179	FBXO25	9	08p23.3	GAGAATGCTGAGTCCGACAGAAATG	CAGTGTGCTCCGTAAGTCTCTCTCGTGGTAAATGTT
186	DMRT1	2	09p24.3	GCAATGGCAGTAACCCGTGCCTCAT	GACTGAGTGCAGTGGCACTCTCAGCCACCCGCCGCG
193	DIP2C	4	10p15.3	CGATGCGAGTGCCTATGCCTTCCAAAC	GCAGGTCCCTGCTGTGCGAGCTCGATGGGACGCTAC
202	RIC8B	3	11p15.5	CCATGAGATCTCTCAAAGTCTCTTCA	ACATCACCCCTGGACTCCATCAAGGGGGAGGTGGACGA
208	SLC6A12	19	12p13.33	CTGAGGAACCTGGAGACCAAGAGACAAA	GGGACTTTTTCAAGTTTCAATGAGGACCCCTCTTGGGGGCC
219	PSPC1	2	13q11	CCTCTACGGATTGCTTCGCTACACAT	GGAGCAGCCTTGACTGTCAAGAACCTTTCTCCAGTTGTTTC
227	CENB1IP1	4	14q11.2	TCAAGAGACTGAAACAGATCTGAGTTTCG	CTGTTCCAGTCTGGACCTCTTGGTGTGTAATCCTGGATAT
235	MKRN3	1	15q11.2	CATGCCGACATGTGTGGGCTGCAGACCT	TGCACCCCATGGATGCTGCCAGAGGGAAGAACATAT
242	POLR3K		16p13.3	GGCAGCAGATCTGTGGGCTCTACTT	TCCAATACACTCAGAAAGCCCAACCGTTCCACCCGCTGGG
250	RPH3AL	5	17p13.3	GGCTGGAGACCATGAGCGGAATGTG	ATGGGGAACGGCCTGTCCAGGTGTCTGCTGTGGGGGAGGT
258	USP14	7	18p11.32	CCTACTGCAGTTTTGCACATGGCTTTCCA	CAGTTTGGCGAGAAAGGTGAACAAAGGACAGTATCTTCAACAG
265	CDC34	5	19p13.3	GACGAGGGCTCAGACCTCTTCTACGAC	GACTACTACGAGGACGGGAGGTGAGGAGGAGGCGACAG
274	SOX12	1	20p13	CGAGGACGACGATGAAGACGACGA	CGAGGAGCTGCTGGAAGTCCGCTGGTTCGAGACC
283	RBM11	1	21q11.2	GGCCGACAGGACCGGTGTTGTGGGAA	TTTAGAGGCCCGAGTTCGGGAAGAGATTCTGTACGAGCTGTT
289	BID	4	22q11.21	GATGAGTGCATCACAACCTACTGGTGTTT	GGCTTCTCCAAAGCTGTTCTGTACAACAGCTTCCGACAGAGA
298	SHOX	4	Xp22.33PAR	CTTCTCCCAAGGTTTGGTTCCAGAACCGGAGA	GCCAAGTGC CGCAAAACAGAGAATCAGATGCATAAAG
307	SH3BP5L	5	01q44	GCTGCACAACGCTGCTCGAGAAATGGTGT	TTGTGGCTGAGCAGGGCGCTATGGCTGCAAGAACCAGCTGGA
313	CAPN10	3	02q37.3	CTCCTTCAACCTGTGCAATTTGGCAGT	TTGACGCTGGGTGGAGGTGACACAGATGACCCGCTCGCGTCC
322	BDH1	4	03q29	GCCACCGGGAGGAACCTGGGCCAT	TCTAACACCCGTTGCTACCATGCTGGCCACCCGCTCTCCAGA
330	TRIML2	2	04q35.2	TTGAGGGGAGAACTTGAAGCAGCTAA	AAGCATATTGACTGATGAGCAAGAAAGAAATGGCGATGATTCAGGTCA
337	GNB2L1	6	05q35.3	GGATCTCAACGAAGGCAACACCTTTACAC	GCTAGATGGTGGGACATCATCAACGCCCTGTGCTTACGCC
346	PSMB1	5	06q27	GCCAGTAGGGTCTTACCAGAGAGCTCCT	TCAAGGCTGGAGGCTCAGCAAGTCCATGCTACAGCCCTGCTT
355	VIPR2	3	07q36.3	CTGGCGGCTGCCAATGTGGGAGAGACC	GTCACGGTGCCCTGCCAAAAGTCTTCAAGCAATTTTACAG
361	ZC3H3	2	08q24.3	GGTCCGCGAGCAGCATGTCTTGA	GAGACAGGTCCAGCTCAGTCAGGTCAGAACGTTGATCAAAG
372	EHMT1	23	09q34.3	CTGAGACCATCTGTACGACGCGATT	TCGGCAGTTCTCCAGCAGGACGCGGTGGT
379	PAOX	3	10q26.3	GCCTACCTAAGGGCACGGTGACGATGACATG	GTGCGCCGGGAACCGGTCTCCATCTCAGACTTACCGAC
386	NCAPD3	2	11q25	GCAGAGACTGAGCCTTTGGATCCCA	GCATAGAAGCAGAGATCATAGAGACTGGAATTGGGTGCAATTCAC
395	ZNF10	5	12q24.33	GCTCACACTGGAGAGCAGTTCTTAACATG	CAATCAATGTGGGACAGCGCTTGTTAATACCTCTAACCTTA
402	F7	6	13q34	CCAAGGATGACCAGCTGATCTGTGTGAAC	GAGAACGGCGGCTGTGAGCAGTACTGCACTGACACACGG
411	MTA1	8	14q32.33	CACACCAGGAACCTGGTCGATCTGCT	TGCTGTGAGTGGGTTGTGCGCTCCACACCTGGGTCTC
418	ALDH1A3	11	15q26.3	GATAAAAAGAGCGAATAGCACCGCATATGG	ACTCACAGCAGCGGTGTTCAAAAAATCTCGACAAAGCCCTG
426	GAS8	6	16q24.3	CGAGGAGGCCTTACCAGACATTAAGA	ACTACTACAACGACATCAACCTCAACACCTGGCCCTCAT
434	TBCD	18	17q25.3	GGCTTTCTGAGTACACGACGCCAA	TGATAGACCACCTGGTTACCATGAAGTACAGCCACTGGGATGG
441	C18orf22	4	18q23	CGTACTGGAAGACAACGCTCTCTGCT	GAGCAGAACGCACACATGGAGGCTGTCTCGCAGAGAAGTGCCGCGCA
450	CHMP2A	6	19q13.43	TGATGCAGACCTGGAGGAACGCGCTT	AAGAACCTGCGGAGGGAGTGTGTCCTGCTGCCAC
458	OPRL1	3	20q13.33	CACGCGCGTCTTGGGAGGTTATCT	ACGGCAGCCACCTTCAGGGCAACCTGTCCCTCTGAGCCCC
466	PRMT2	4	21q22.3	CAGGAGGGAGTACAGCCAGAGGA	GTTTGTGCCATCGCGGACTACGCTGCCACCGATG
475	RABL2B	9	22q13.33	CGCCTAGCTATAGTTAGGAATACACAAGCC	GTAAAAATCGAGTCTTACAGCCATACCAAGGATACGTCCAT
483	VAMP7	4	Xq28PAR	CGCCAGACTACTTACGGTTCAAGAGCACAGACA	GCACCTCCATATGCCATGAATAGCGAGTTCTCAAGTGTCTTAG

MIX DE SONDAS P064						
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO	
130	EIF3H	2	08q24.11	TGAAGCAAAGTGCAGATAGATGGCCTTG	TGAGTGTCTTCTTTTCTCTGGCCACGTGGG	
136	ACTRT2	1	01p36.32	CTCACAGGGTGGGATGACGTGGAGAG	ACTCTGGAAGCACCTCTTTGAGTGGGAGCTAGGCGTG	
141	CREBBP	31	16p13.3	GAGAAGTTTGTGGAGGCTGTAGCATT	GTGAGAGCATCACCTTTCCCTTCATGTTCTTGACCTT	
148	GABRD	6	01p36.33	TTCCAGACGGTTACTCATCGGAGGAC	ATCGTCTACTCTGGTCCGAGAGCCAGGACACATCCA	
154	DGCR8	2	22q11.21	GAAACGTCCAGTGGTGCAGAGGTAATGACGT	TGGCTCTGGTGGTATGACAGTCCGAACCTCCCTGCTGAG	
159	PAX6	3	11p13	TGCAACATCCGTGGAGAAACTCTACCA	GCAACTCGTTTAAACACCGCTATTTCGAACCATTTGTGTCTT	
165	RAI1	6	17p11.2	TCGCCTACTCTGCACGGGAGCAGGACAGCGCTAGATT	TCGTGTACAAAACCTGTGTACCCCTCTATATATGTTACATAGAA	
170	FSHB	3	11p14.1	GTAATGGAGTGAGTAAAGAACTAATGCA	GCAGTCTTCTGTAGACTCTTGGGCCCTCTAGAGCAA	
175	DODC1	4	11p13	TGACTCGTGCAATTCAGCAGCATATCAG	AAGGGTCAGGACTCAAGATTGCTCCACACATCAACAGC	
181	NSD1	24	05q35.3	TCGCCAGAAAGGAGCGGGCAGCTTCACTCTCA	TCAGGTACACCCACAGGCTGATGAGAAGATGCCAGTGTG	
187	PAFAH1B1	1	17p13.3	TAGCGGAGGAGCAGGCACACGGGAGTCT	AGGGAGCGAGAAGGAGAAGGGGGAGCGCTCGG	
193	TOM1L2	1	17p11.2	TGCTATGTGGTGGGGCTTGTCTGACAGAGTGTA	ACGACCAATAGGAGCGGGCTCTGATGGTGTCCCAATAGAG	
199	WHSC1	5	04p16.3	GATGGAGAACCCGGCGCACAGATGCCAACTGCGTTTGA	GTCCCAGGAATGAAGGGATTGGGACACCCCTAACACTACCC	
205	CLTCL1	3	22q11.21	CCTTTCTGGAATGGGTTTCTGTGAACATGTTGCCCTGGT	GACCGAGACCGCGCTTCACTCTGAGCATGGAAGGTG	
211	ZNF74	2	22q11.21	GTTCTGTCATGAATTGGAGTGTCTGAGACACAGGCAGATTAT	TCCTCGATGCTGTTCTGTGGTGTAGTACTGGGGCTC	
219	SNRPN	CpG isl	15q11.2	GATTTTCTTTTGGAAAGGATTCAAGTCTGCGGTA	TTTGCAATGATTGTGTTATGGCGCATTAACCTTTCCAAACC	
226	TRPS1	3	08q23.3	CAAAGACTTCCAGAAGTCAACCGTTCTGTGTT	TTCTGGTGTCTGCAGGACATCAATTCTCAAGCGCTGTTTAC	
232	NSD1	15	05q35.3	CGCTGTCTGTGGCATACCAACGCCAAT	GACTTTGGCTGGCTGCTGGGTCAAAGATCCTTGCACTAA	
238	WHSC1	25	04p16.3	TTCTGTTGACGGGAAGTGGGAATGCTTGGCATCATT	GTGACGTGTGTGGCAACCTTCGACTTCATTTGCCACCTC	
244	RAI1	1	17p11.2	TCGGGATCCTAGGCCGGGTGATGAGCCGA	GGCGGGTTCGGACGCGAGCGCGCGCGCTGGG	
251	CLPTM1L	5	05p15.33	GTAATCCCAAGGATCCAGCTGGGGAAAAACCGTGCA	TTACCTGCCATCCTGTTTCAATCGAACGCTCAGCAAC	
256	TWIST1	up	07p21.1	CTGAAGACACAGCTCTGTTTACACCTCGCTGGAGAAATA	ACACTCGCCCTCACTTCTCCAAAAGAGTGAACCTTCAG	
264	NSD1	2	05q35.2	CTCCGACGAAACTTTGCTGTCTGTAATATTGATGAGA	GGGATCGGCTCGGCTGGGAGGTGCTGCCCGGCTGCGGGAA	
268	TERT	2	05p15.33	CCTAGGCTCTGCGGCTCCAGGCACAAAGCGCGCTTCCACGGA	ACACCAAGAAGTTCATCTCCCTGGGGAAGCATGCCAAG	
274	EXT1	2	08q24.11	GGCTATCCACGAGAGGTGATAATGTT	AAACCCACTTAATCTCGGCTCTCGCTCCTCAGCCCTATTCTGG	
281	JAG1	21	20p12.2	CTTCACCTTGTGCTTTGGAGCGACCTGT	GTGGATGAGATCAATGGCTACCGGTGTGTCTGCCCTCC	
287	UBE3A	5b	15q11.2	GGCAAGGAATCATTTAGCAGTAAATGGGAGATAGG	AACATACCTACTTTTTTCTATCAGATAACTCTAAACCTCGG	
292	PAFAH1B1	11	17p13.3	GCAAGACGGCACCCATGTGCTCACTGGCAGCGTA	GATCAAAACAGTAAAGTGTGGGAGTGCCTGTGATTGTGTCTCT	
298	CREBBP	3	16p13.3	GCAGATATCAAGAATATCTCAGTCCACACCGTGCCAA	ATATGTAAGTTACCCCTGGCCCTCAGTGTATGCGCTCCGGT	
306	ARSA	1	22q13.33	CGACCTGAGCCCGGACCGCTAGGCGAGGAGGATCAGAT	CTCCGCTCGAAGATCTGAAGGTGCCCTGGCTCTGG	
315	PEX10	2	01p36.32	GTTTCTCTCTCAGGTGCGAGGAAGTGGCTGGAGT	GGAGGAAGGAGGTTGAGCTGCTCAGCATGTGGC	
323	PAFAH1B1	2	17p13.3	CAAAGCTTTTGTATTCCCAAAGGAGGGACATACCACTATATC	AGATAAGCTTGACATTACAGCCAAAGATGGTGTCTGCCAGAGA	
331	GNB1L	8	22q11.21	GACTCATGAACCTACCAATCCCGGGATCGCCGA	GGTCAAGTCCGGCCAGATCGCAAGATCCTGGCCACC	
339	ELN	6	07q11.23	CCTTTCGGGGGCTCTGGTGCCTGGTGGAGTGGCT	GACGCTGCTGCAGCTATAAGGCTGCTAAGGCTG	
346	UBE3A	14	15q11.2	CGCTTTAATGTGCTTTTACTCCGGAATACCTAA	GCAAAAGAAAACTTAAAGAGAGATTGTTGAAGGCCATCACTGA	
355	TWIST1	1	07p21.1	CACTTTCCGCTGACGAGGATTAAGAGCCTCCAA	GTCTGCAGCTCTCGCCCACTCCAGACACCTCG	
364	TERT	13	05p15.33	CCAGCCTCCAGACGCTGTGACCAACATCT	ACAAGATCCTCTGCTGCAGGCGTACAGGTGAGCC	
372	IRX4	5	05p15.33	CAGTCTCAGAACTGGGTGGACGGGGCTT	CCACGACCCATCCTCAGGCACAGCACTTTGAAC	
380	SNAP29	3	22q11.21	CAGAAATCAAAATGTGGCTGTGCACACAGGTATCCACTTAC	CTGTATCATCCAGCTTCTAAGGTTTGGGTGCTGGCCTGGTACTT	
388	ELN	4	07q11.23	CTAAGCCAGGTAAGACCCAAAGGCTCGGAGCA	TTGAGAGACAGCGAGGGAGCTGGGAGGGAGGAGCCTA	
396	SNRPN	u5	15q11.2	CGGTGGGATTGGGTTCACTAACCTGGGTTAG	AGAAAATTACAGTAATGTGCCAAATCTGAGGAGGGAGCAG	
404	TNFRSF4	3	01p36.33	CCTTGGCCGACGCCACCGAGCTACCAACTCCAGGCTT	GTAGCTGTCCAGGGGCTGGGTGCCCGCCC	
413	CTNND2	2	05p15.2	GTCCAGACGAGCTTCATCAGCCTCAG	AGAAGACGAGTTCCTGAGCCCGGCTTAAACACCTCCAA	
421	RAI1	3	17p11.2	CGCAGCCCGAGTCATGCAGCTTTTTCAGAGAA	AGGTGTGGTTCCATGGCAAACAACAGAACTACC	
428	SHANK3	18	22q13.33	CTCGTCCAAGTCCATGACAGCTGAGCTC	GAGGAACTTGGTGTGGCGGGGTGGCGGTGGA	
436	METTL16	1	17p13.3	CTCGGTTCTAGGAGCTTCGCTATCGGCTGCTTTAA	GATTCTAGGTTGTACAGGCCACGCCAGACAGACGCTCTG	
445	WHSC1	9	04p16.3	CAGGTCACAGTGGAGTCTGCTGAGTGAGAA	GCAGAGAGCAGCGATCAACACCAAGTTGCCCTGGTGGCC	
453	TACC3	4	04p16.3	CCTTGGCTCTTACCACTCGACTGGGACAAAAATGGA	TGACCCAAACTTCATCCGCTTCGAGGTTGACACCAAGCTCGT	
461	MED15	10	22q11.21	CCTGTGTGTATGTCCAGGTGGCATTGGAT	GAAGACACAGGTGTGTGGTGAAGGTGTGCGGGAGGATG	
469	ELN	27	07q11.23	CCTGCTTGCTTGTGTCCCTGGGGCAGGGAGCCATCGT	TCAGAAATGGAACACTCATTTTCCCTCTCTCCCGCAGGAGCA	
476	CD45	1	22q11.21	CCCAGGCGTCCGACCGCGTGGCTATGTTGCTGTCC	GATTTCCGCAAAAGAGTTCTACAGAGGTGTCCAGAGCC	
483	JAG1	1	20p12.2	CCGAAAGGGCTTTTGAAGGTGTTGTTTCCAGCTCGT	GCATGCTCCAATCGGCGGAGTATATAGAGCCGGGACGCG	

MIX DE SONDAS P070					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
132	SH3BP5L	3	01q44	TGCAGGAGGAGTTGGAGCACCTGAA	CCAGGCCAGCGAGGAGATCAACCAGGTGGAACACTACAGC
139	ATG4B	7	02q37.3	GATAGGAAGCTTGCTGTCTTGGATACGTGGAGCTCCT	TGGCGGTCCACATTGCAATGGACAACACTGTTGTGATGGAGGA
145	KIAA0226	22	03q29	CTCTTCTCCAGGTCACTGCGCTGGAGGACAG	ATGTGCCGTCTTGTCTGCTGTTTCACATCAGCATAGGATCA
152	FRG1	1	04q35.2	CCCTGTCTCCGCGCCCTGTGCTGCCCCGA	CTCACATACTCGTCCAGAACCGGCTCAGCCTCTCCGCGC
160	GNB2L1	2	05q35.3	GCGGGGTCACTCCCACTTTGTAGTGAT	GTGGTTATCTCCTCAGATGGCCAGTTGCCCTCTCAGGCT
166	TBP	2	06q27	GACAGCATCACTGTTTCTGGCGTGTGAAGAT	AACCCAAGGAATTGAGGAAGTTGCTGAGAAGAGTGTGCTGGAG
172	VIPR2	2	07q36.3	CGCATTCACCCAGAATGCCGATTTCAT	CTGGAAATACAGGAGGAAGAAACAAATGTGCAGAGCTTCT
179	RECQL4	17	08q24.3	CAGCAGCTCCGTGGAGTTTGACAT	GGTCAAGCTGGTGGACTCCATGGGCTGGGAGCTGGCCTCT
186	EHMT1	10	09q34.3	TCAGATGTGCTGGAGACAGACGGCTCCAGG	AAGTGCCTCTCTGCAGCTGCCGATGGAACACCGAAGAGT
193	ECHS1	8	10q26.3	TCCGGAAGAAGGGATGACCGCGT	TTGTGGAAGAAGAAAGGCCAATCTCAAGACCACTGAGAACA
202	IGSF9B	20	11q25	CGCTTTGTAGCGAAATGTCACTACTCCCTGT	GCTCCTTGCTTCTGCAGCTGACCTTGTAGTCAACAGGACTG
211	ZNF10	5	12q24.33	CACCTACTCAGGAGAGAGTCTCTGAAAGTGGTAA	ATATGGGGGAAACTGTCTTCTCCTGCTCAGCTAGTACTGAGAG
218	CDC16	8	13q34	GACGGTCATCCCTGAATCTGTAGATGCGT	TGCAAGAGAATCTGATGTGGTAGTGTCTTTAGCTGAGAGA
226	MTA1	7	14q32.33	CCTGCTGGCAGATAAAGGAGAGATTCGAGT	AGGAAACCGGTACCAGGCAGACATCCGACTTGTAAAAAG
233	TM2D3	3	15q26.3	GCCTTATGTGATGAAGTGTCCGAGCAAT	GGTTTGTGTAGCAGGCTTCTGCAGACTGTATAGACTGCACAA
241	GAS8	11	16q24.3	CCTTTCAGGTGCTGCGCACTAACT	TCATTGACACCTGAGTCACAGCTGCCAGTGGGATTCT
250	SECTM1	4	17q25.3	CGTGGTCACTGCTGTCTTCACTCCTCT	TGGTGCCTCTGGTCATGTTCCGCTGGTACAGGTGCCGC
258	CTDP1	9	18q23	TCACGGGCACTGACCTGGACTTTGACT	TATCCAGCGACAGCGAGAGCAGCAGTGAGTCCGAGGGCACGAA
265	CHMP2A	3	19q13.43	GCCAGGCTGTGTCCCTCAAGATCCA	GACACTCAAGTCCAACAACATCGATGGCAACAGCCATGAAGGT
274	UCKL1	6	20q13.33	GAGGGTGTCAATCAAGCAGTACAACAA	GTTTGCAAGCCCTCCTCGACCACTACATCCAGCCCAACA
281	S100B	2	21q22.3	CGCCCTCATOGACGTTTCCACCAATATTCT	GGAAGGGAGGGAGACAAGCACAAGCTGAAGAAATCCGAAT
290	ARSA	1	22q13.33	CCGCTAGGCGAGGAGGATCAGAT	CTCCGCTCGAGAATCTGAAGGTGCCCTGGTCTGG
298	VAMP7	8	Xp28PAR	CCTGTGCAAAAGGGAGGTAGTGTGGGAAAAGT	GTTTCATTCTGGGAAAAGCCCAACCAAGTACGGTCAGCAGT
306	TNFRSF18	4b	01p36.33	GGCTGCACCCAGTTGGGTTTCTCAC	TGTGTTCCCTGGGAACAAGACCCACAACGCTGTGTGCGTC
315	ACP1	5	02p25.3	CCACGTTTTAGGGCTAATATGAAGACCCAAACACA	TTTGATCCTGCCATATTAATAACAGATGAGATGTGTAAAG
323	CHL1	3	03p26.3	GGTCTCAGCTGTAAACCAAAAGTGAGAGGA	GACATTAAGATTTTCATTCTTACCGGGTGTCTTCTCCTGAA
329	PIGG	8	04p16.3	GTACGGCTGGTCTCTGGGAGTGTGACGTA	GTCTTCTGCTCAGGTTGTTCTTGTTATTCAGGCTGCCTTCG
337	CCDC127	3	05p15.33	CGGAAGCCAAAGTACCAAGCCATGATCT	CAGAAAAACGGCGTGTGCTGCTCAGTTGTCTGGAAGTCT
346	IRF4	3	06p25.3	GCTTTGAACAAGAGCAATGACTTTGAGGAA	CTGGTTGAGCGGAGCCAGCTGGACATCTCAGACCCGTACA
355	UNC84A	5	07p22.3	GCGGGACATCCGTGGAGAATCAAA	TACAGGGTCCAATTTGTGCTCCGTCTCAAAATCCAGAGCA
362	FBXO25	8	08p23.3	GCAGTGACCTTCTCTGCACATGCTGA	ACAACATCCTATACCGGTTCTCAGACGAGTGGGACATCATCACTTAGG
370	DOCK8	23	09p24.3	CCGATCGCAACTGCAGCCGAATGCTTACT	ATTGCTCTGGCAGTAGTATGCTCCAAAGTCACTGCAGC
379	ZMYND11	2a	10p15.3	TCGGTCAATGTTGGCAATCTGCTTCTGGTT	CCGTATAATCTCAATGGCTGCCCAAGATGCTGGATAGCTT
387	BET1L	3b	11p15.5	GGGTGGTCAAAATCACCCTCTGTGTG	ATCTTGCTGGGATTCTCCTTAGGACTCGGATTTCACAAG
393	JARID1A	23	12p13.33	CGACAGAACGTGCTATGAGTTGGCAAGAT	AGAGCGCGCAGGCTCTAGCCACAGATGAAGTATCTCTGTC
402	PSPC1	1	13q11	GCACGGAGGAGGACTTCAAGAGGCTCTT	CGAACGCTATGGCGAGCCAGCCGAAGTCTTCATCAACCGGGACC
409	PARP2	16	14q11.2	CAGTACAGTGCCATTAGGACCAGCAA	GTGACACAGGAATCTGAATCCAGATGGTTATACCCCTCAAC
418	NDN	1	15q11.2	GCTAGTCCTCAGAGCACTGCTGCGA	GGGTAGTGGCAGTGGGATTAGCCTCCGCGAGAGC
427	DECR2	9	16p13.3	CCCGAGACTTGTGTTCTCTTGCT	GAACAACTGAGGTGCTCCCATCTGTGCTGGGCCAT
436	RPH3AL	2	17p13.3	GCCTCCAGCAGAATTTGTGTAGTGACACT	TGTACGTGCACCTTGGAGACGCAAGCATGAGGCTGCAGC
444	THOC1	21	18p11.32	GGCAGATTGAGTGTGACATGAAGACATGA	AGATGAGAGCTAAGCAGCTCCTGGTTGCTGGCAAGATCA
450	PPAP2C	7	19p13.3	CAGCACTGTCTGAAGGAGGAGGAGCT	GGAAACGGAAGCCAGCCTGTCACTGACGTTGACCC
459	ZCHC3	1	20p13	CAGCTTGAAGACGCTTTCATCCTCT	TCCGGAACGAGACGGTGACGTGGAGGACATTTGTAAGTGG
466	HSPA13	2	21q11.2	CAATGATGTATATGTGGGATATGAAAGCG	TAGAGCTGGCAGATTCAATCCTCAAAACACAATATAT
478	IL17RA	4	22q11.1	CCTCCTGTACCTCGAGGGTGCAGATTATCT	GTCTGACAGCTGAACCAATGAACGTTTGTGCTCAGGT
484	SHOX	5	Xp22.33PAR	CCACAGGCGTCACTTGGGACAGCCAAACCAC	CTAGACGCTGCCGAGTGGCACCTTACGTCAACATGG

MIX DE SONDAS P106						
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO	
118	ZFY	4	Yp11.31	TTCCAAGATGTTGTTGAAGATGTTGTATAGAGGAGG	ATGTTCACTGCTCAGATATCTTAGAAGAGGCAGATGTA	
130	AGTR2	3	Xq23	GCTTGCAATTATGGCTTTCCACCTGA	GAAATATGCCAATGGTCAGCTGGGATTGCCTTAATGA	
136	GDI1	1	Xq28	GAGCGGGCGCTGGCACCGAGGCTGACCATGGA	CGAGGAATACGATGTGATGCTGGGACCGGT	
142	FMR1	16	Xq27.3	TGAAACGACGATCACTCCCGAACAG	ATAATCGTCCAGTAATCCAAGAGAGGCTAAAGGAAGAACAAAC	
148	ACSL4	12	Xq23	GACACCCGATTCAATGAATGCTGCTTCT	GCTGCCAATTGGCCAGGTTATGGACTGACAGAATCA	
154	AFF2	1	Xq28	GATGGCCGCTATGGATCTATTGACTTTTCA	GAGACTGGGACTTGAGCAGCAGTGGTAGGTGTTGATT	
160	TSPAN7	1	Xp11.4	GCATCGAGGAGAATGGAGACCAA	CCTGTGATAACCTGTCTCAAAACCTCCTCATCTACTCTCTCG	
166	FMR1	9	Xq27.3	TGATCAGGATGCAGTGAAAAAGCTAGAAG	CTTCTCGAATTGCTGAAGATGTAATACAAGTTCCAAGGAAGT	
172	ARHGEF6	9	Xq26.3	TGTCCATTTTGTACAGGTTCCAGAAACCAGCACAAAGTAGGAG	GTTGTCTACTGAGTCTATGCTCTATTTAAATCTATGTATCTGGCTTAC	
178	RPS6KA3	21	Xp22.12	GCTTCATGTAGACCTCATCAGAGACTGA	CTGCTGCTCTGTGCTCAGACATCCTGGATCGTCCACTGG	
184	HUWE1	61	Xp11.22	TCTTCAACTGATGCAGCTACATCTGAGTCCAA	GGAGACCCCTGGCACTCTGCAATCCTCAACACAGCAACCAA	
190	ACSL4	17	Xq23	CATTCCAATCAAGGTTGATTAAGCCAGAGC	CATGGACCCCTGAAACTGTTGTTGAATGATGCTTTCAAACT	
196	ARX	2	Xp21.3	CCAGGTGAGCATCAGCCGACGCAAGT	CGTACCGCGAGAACGGGGCGCCCTCGTGCCG	
202	ARHGEF6	19	Xq26.3	GAGCTGCTCTGGAAGAGGATGCTCAAAATC	CTTAAAGTGATCGAAGCTACTGCACCAGCGCAAAATTTCAACA	
208	SLC6A8	4	Xq28	TGGAGATCTTCGCGCATGAAGACTGTGCCAA	TGCCAGCCTGGCCAACTCACTGTGACAGCACTTGCT	
215	DCX	4	Xq23	CAGCCCACTCTTTGAGCAAGTCTCACTGAT	ATCAGAGAAGCCATCAAACTGGAGACCGGGTGTGCAAAAAAC	
222	ARX	4	Xp21.3	TCGAATGCCGGGCTGATGAAAG	CTGGGTGTGGAACACTGCCGCTCGAGGAAAGTGCT	
229	ARX	1	Xp21.3	TGGCAGAAAGGCACAAAGATCGCAATAA	TATCCGTTATAACCCGCTATCTAACCCCAACCCCAACACACAC	
235	IL1RAPL1	3	Xp21.2	CTTATATCAGAACAAATTACTCCCTTGCCCAAAAGTG	CTGGACTCAGTTTGATGTGGTACAAAAGTTCTGGTCTGGA	
241	AFF2	6	Xq28	CTTCTGGCCTACTCTCTCACTTCCATG	CATACTGCTGGACACTCTGAGCAGACACTTTTCCAT	
248	ACSL4	1	Xq23	CGCGCTCTCTCGTCCACGGCTA	GCGGGCAOCCGTTCTTTTTCGAGCTTCCGAGTGCCA	
256	HUWE1	6	Xp11.22	GGACCGCTCGATGGAATACTGGCAGATGCTGGA	CAGACAGTGGAGAAATGTCTATGATGCTGATGTGATAG	
263	AFF2	21	Xq28	GTCCAGGAACACTCCATCCCACTGTCTCTCA	ACAACGCTCTCCCACTCAACGCAATGGGAACATGTAAC	
268	TSPAN7	5	Xp11.4	CTAGCTGAGCTGCTGTGCTGTGAG	AACTACACCAACTGGAGCACCGCCCTACTCTCGGAGC	
275	DCX	5	Xq23	CATGATTTCTTGGTGATGATGTGTTT	ATTGCTGTGGTCTGAAAAATTCGCTATGCTCAGGATGATT	
283	AFF2	3	Xq28	GTGGTCACGTGATAGTCAAAACCTA	GCACTGTACTGGCAAGCCAGGCCAGTGGTCAG	
292	IL1RAPL1	1	Xp21.3	GCACCTGGATTGTATCTTCAAGCAAAATC	GGGCACTTTGAGAACTAAGTGGAGACAGTCTGTAGGGAA	
301	SLC6A8	9	Xq28	CTGGCCTTCACTGCGCTACCCG	CGGGCTGTACGCTGATGCCAGTGCCCACTCT	
310	PQBP1	2b	Xp11.23	CCTGGTTCATTGTAGTAGATCGGAGTCAGATGAGTACAT	GTTTACGGAGGCGCTGTGTACGGGATCCAGATAGGAATC	
319	DCX	2	Xq23	CCTTCAAGGGGAATTTGTGAGGCTATGGAT	TCATTACAACTGTGATGATGTGGGCACTGTGAGGAAACAG	
328	IL1RAPL1	2	Xp21.3	CCTTAAAGAGCTGGAAGATGAAAGCTC	CGATTCCACACTTGATCTCTTATACGCTACTTTTCTCAGAG	
337	AFF2	12	Xq28	CCAGCCCTAGGAAGAACAAGACCT	AACATCCCTTTGGCTCCGAGAAGAAGAAGTACAGAGGGC	
346	ARHGEF6	1	Xq26.3	GGGAGTTTGAAGTCCCTAAAAAGACCA	TCTGTGATCCGAGGAGTTTAAAGTCTCTGCTGAAAAATGGGGA	
355	AGTR2	1	Xq23	CGTCCAGCGTCTGAGAGAACGAG	TAAGCACAGAAATCAAAGCATCTGCAGCCTGAATTTGAAGG	
364	RPS6KA3	3	Xp22.12	GCAATCACACATCATGTAAAGGAAGGACAT	GAAAAGGCAGATCCTCCAGTTTGAACCTTTAAAGTATTAGGGC	
371	OPHN1	1	Xq12	CGGGCTGCGGTTTTGTGCTTATCT	GGGAAGGCGATGCTAAGGGACATGCTGCTGTGATGGC	
378	GDI1	7	Xq28	CGGGGACATATATGCTGAACAACTGTGGATGACATCA	TCATGGAGAACGGCAAGGTGGTGGGCTGAAGTCT	
385	PAK3	7	Xq23	CGAGGATGAATAGTAACAACCGGATTCTCA	GCACTCAACCAAGCTCCAAACCACTTCCATGGC	
391	PQBP1	5a	Xp11.23	CGTCCCAAGATGCTGAAGAAAAGTTGGACC	GGAGCCATGACAAGTCGGACAGGGGCCATGACAAGTCGGA	
400	PAK3	21	Xq23	GCAATGTATCTGATAGCCACTAATGGAAT	CCAGAGCTCCAGAACTCTGAGAGACTGTGAGCTGTATCCGTG	
409	OPHN1	3	Xq12	CGTTCAGAAATTTCCAGACGCTGCAG	TCATTTCAAGTTTGAATTCATGGAGACACTGCTGACTGATGATG	
418	PAK3	14	Xq23	CCAAATAAAGAGGTCACACCACTCTGCT	GAAAATGCCAATCCAGTACTTTGTACAGGAACACAGATCGGC	
427	IL1RAPL1	6	Xp21.2	CGTTGTTGTTTTTCAAGCCCTCTGACTGATA	AGCCACCAAGCTTTGTATCTATGGAAGTAACTGAC	
436	OPHN1	12	Xq12	CCATCACTCTGAGGCCCTTTCAG	AAGCTAACAGAAAGGCTATGGATGGAAGCCATGGATGGGAAAGA	
443	ARHGEF6	4	Xq26.3	CACAGATCAGCTATCAGAAAGACCATGTGGAGTTCCT	CTTCTCTAGTGTGCTAATCTCTCAGACAAACCCACAGGGA	
472	OPHN1	21	Xq12	CAAAACCCCAATGGTACTATCACCAGCAG	CATAGAACCCCAAGGCCACCAACACCCCAACTAC	
481	PAK3	22	Xq23	CGCGGCTGCTGTTCTTAATTGCTTCC	TTTGCAGCGATAATCAGAGGAGTCAAGCTGGAGAGAGGCTT	



MIX DE SONDAS P230					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
130	AP2A2	7	11p15.5	TACAGATCGTGACGTCTGCATCCACA	GATCTCCAGGATTACACTTACTATTTGTCCCGGCTCC
136	ZMYND11		10p15.3	TTTGCCAGCCAAAGTCATGCAGA	AAGAAGACAATCAAGTCGAGTTCGCTCTTTGGCCA
142	KCNQ1	3	11p15.5	TATACGGTCACGAGAGTGCAAAGTTCT	GTGAAACGCTCCAGTGGTTACACGCCCCGGGTTTCA
148	KCNQ10T1		11p15.5	GCGGCCCTTGGGTTTCTTCCT	TACACCCGACGCCCCGCTAAGCTCGGGCTGCCGC
154	SMARCA2		09p24.2	TCAGGGAAGTTTGAGCTGCTTGAT	CGTATTCTGCCAAAATTGAGAGCGACTAATCACCGAG
160	ADARB2		10p15.3	TGCAGAGGGTCTGGAGGGCTGAGC	AGTCAACTCAAATGCAAGTCCAAAGAGGAGGAGGCG
167	JARID1A		12p13.33	CGTTTGACAGAACGTGCTATGAGTTGGCAAGAT	AGAGCGCGGAGGGCTCTAGCCACAGATGAAGTATCCTCTGC
172	CCND2		12p13.3	GAGCAGGGGAGAGCGAGACCAGTTTA	AGGGGAGGACCGGTGCGAGTGAGCGAGCCCCGAGGCT
178	SMARCA2		09p24.2	TAGGAGCCTAGGCGACCTGGAGAAGGA	TGTCATGCTTCTCTGCACAACGCTCAGACGTTCAAC
184	VLDLR		09p24.2	TGACAGTATTGCCACCTCTGGCCAAA	TATGCACTTTCCCTAGAAAGCCATATCCAGCAGTGAA
190	DOCK8	24	09p24.3	GAGGACTCGTTTTCTGACCGTTTCAT	GGATGACATAACTACTATTGTTAATGTGGTCACCTCGGAAATT
196	ERC1		12p13.33	TCGTACGGCGAGAGATAACACAATCAT	GGATCTGCAGACACAGCTGAAGGAAGATTAAAGAGAAATGAT
202	VLDLR		09p24.2	GCCAGTGTGTTCCGACCGCATGGA	AGTGTGATGGAGATCCTGACTGCGAAGATGTTTCAGA
209	ADARB2	1	10p15.3	CATATTGTCAACCTTCCTCGCTCTTTCAA	GCACCTGAGTCTCGGCATCACAACACGGAGGATGACGAC
214	NUP98		11p15.5	GATATGCCGTGCTCCCACTTCCTTCGTAT	CTGGAGGGTCTGGCTGTGTATAGCGGAGGAGCA
220	ID1		10p15.3	GCTGAGACCAAGAAGATTGTACCTGAAC	GAGAACATTGAGAAAGGTGCTGCTTTGAACAGCTTT
226	FOXM1		12p13.3	GCCACCTACTCTTACATGCCATGATACAAT	TGCCATCAACGACCTGAGAGAAGCGCATGACTTT
232	TSPAN9		12p13.3	CAGCTCTGTGGCTGTGGGCTGTGGGA	GTGGGCACTGGCTCTCCGTGCCAAGGCAACTTTG
238	PTPN6		12p13	CAAGGGGTGCGCGCGCCTCT	TCCTGTCCCGCCCTGCGGCTGCCACGGCCAGTGGAGT
247	SLC6A12	5	12p13	GAGCTGATCGATCACCTTAGCACACAG	CTGGCTAGGAGAGAACCTGAGCTCACTTGGCCACACCT
256	JAK2		09p24	GCTCCAGAATCACTGACAGAGAGCAAGTT	TTCTGTGCGCTCAGATGTTTGGAGCTTTGGAGTGGTTC
265	JARID1A		12p13.33	CCGTCTTTGAGCGGAGTTGGGAG	GAGTTCACAGATCCGCTCAGCTTTATCCGGCCGATCCG
274	H19		11p15.5	TGGCAAGAAAGCGGCTGTGTTCTT	TACTTCTCCACGGAGTCGGCACACTATGCGCTGC
283	ERC1		12p13.33	GATGAGTTAGAGAAAGGTGAACGGGACAAT	GCAGAACTGCAGGAGTTTGCCAAAGCCATCTTCAGCAGA
292	DMRT3		09p24.3	GGGTGTCCATTTGTGTCAAAGCAGTCCATT	TACACCGAGGACGACTATGACGAGAGGTGCTGACTCCTCAG
301	TEAD4		12p13.3	CTCGAAGCCGTGGACATCCGCCAA	ATCTATGACAAATTCGCGGAGAAAAAGGTGAGCTCAAGGATCTCT
310	HRAS		11p15.5	CGGGGGCAGTCGCGCTGTGA	ACGGTGAGTGCGGGAGGGATCGGCGGGCC
319	DOCK8	20	09p24.3	GCCAACTTCTCCAGTTTGCTTCGAG	TCCGTGGTGGCCATCGCCAAAGCTGACAAACAGCAAGGACCT
328	DMRT2		09p24.3	CGAGCGCAAAGCTGTGTACCAGAGGCA	AGTCAGAGCCCCAGTTTGTGGCCAAAGCATTTTA
337	PFKP		10p15.2	GCATGGTGAGCGGAGGCTCAAACA	TGCGAGAGGCGGACTGGGAGAGTGTCTCCAGCATCCT
345	HRAS		11p15.5	GCAGACCTCCAGGGAGGCTGTGCACAG	ACTGTCTTGAACATCCAAATGCCACGGAAACCCAGCC
355	CCND2		12p13.3	CCTGTGAGGATGCCAGTTGGG	CCGAAAGAGAGAGACGCGTCCATAATCTGGTCTC
364	SLC1A1		09p24.1	CGGCGAGGAAAGGATGCGAGTGGGA	AGCGCTCTCTGAAGAATAACTGGGTGTTGCTGCCACCGT
378	ZMYND11		10p15.3	CCATCTCCTGGCAACCAATATCCTCTTG	TTCAATACCAGCTTTTGAACCTTTGACGCCACTGTAGAGTT
388	KLF6		10p15.1	CGATGACATTGCCCTCCCTGAATGCATCAA	ATACTCTTCTCCAAGGACTGACAAAACACCCCGGCT
400	DMRT1		09p24.3	CTGCATGTGGCGGAGTGCAGT	GCAAGAAGTGAACTGATGCGGAGAGGCGAGCGGTG
409	KLF6		10p15.1	CAGCCAGGAAGATCTGTGGACCAA	AATCATTCTGGCTCGGGAGAAAAAGGAGGAATCCGAA
418	PHLDA2		11p15.5	CAATAAATCACTGGCCAGTTTGTCTTTC	TACCATCCGGCTGTGGCTCAGTGAGACTCCTGCTGGGAGG
427	VWF		12p13.31	CGATGCAGCCTTTTGGAGAGTGA	CGTCAACACCTTTGATGGGAGCATGTACAGCTTTGCGGGAT
436	DIP2C	2	10p15.3	GAAGAGGTCAAAGTTAATTGAGCCACCT	TCCGACGCTCCGAGTAGGTAAACCCCATGAGTAGCATGA
445	DIP2C		10p15.3	CCTTGGACCTGGTTCCCTGGTGACCA	ACGTGGTCTGGAGGAGCACTACCTGATGCTGGAGT
458	BET1L	3	11p15.5	CGGAAGCTTCTATGTGGCATGGCCGTGGGTCTA	ATTGTGGCTTCTTCATCCTCTCTACTTCTTGTCCAGGG
472	KCNQ10T1		11p15.5	CTTAAGGTCAATCGACGATGCACTACTT	TGTGGCCAAGAAGAAATCCAGGTAAAGCCCTGTGC
479	PFKP		10p15.2	CCACGGCCCTCATGAAATCCTGCCCAAGT	ACAAGGCCAGCTATGACGTGTGGAGTCAAGGCGAGCTGGA
491	SMPD1		11p15.4	CGCTCCGTGGCCATCAAGCTGTGCAATCTGCTGAAGATA	GCACCACTGCGGTGTGCCAATCCATTGTCACCTCTTTGA
500	DUSP8	4	11p15.5	CCTGCCTCACCTTACCTGGGCTCGCAGAAGGACGTCCTA	AACAAGGTGTGTGTCAGTGGAGTTCGGGGGGTGGTCAATGGGAAA

MIX DE SONDAS P245					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
118	ZFY	4	Yp11.31	TTCCAAGATGTTGTTGAAGATGTTGTCATAGAGGAGG	ATGTTCAAGTGTCTCAGATATCTTAGAAGAGGCAGATGTA
130	TNFRSF4	5	01p36.33	GCACACCCCTGCAGCCGGCCAGCAA	TAGCTCGGACGCAATCTGTGAGGACAGGGACCCCGAGCC
136	GATA3	1	10p14	GGAGAGCGAGACAGAGCGAGCAACGCAAT	CTGACCCGAGCAGGTGCTAGCGCCGCCCTCCTCT
142	PAFAH1B1	3	17p13.3	GCTTACCTCACAAGCTGTAGGCACTCT	ATAGATCAAGCTATGGCTCTGTGACAGCAACCAATTTTGC
148	MECP2	4	Xq28	TGAGAGCGCAAGACATTGTTTCACTCTCCA	TGCCAAGGCCAAACAGAGAGGAGCCTGTGGACAG
154	NSD1	14	05q35.3	CGAAGAGTGTGTCCAGAAAGTACCCACCCACTG	TTATGCAGAAACAAGGGCTTCGGGTGCTCCCTCCACATCTGT
160	GABRD	2	01p36.33	GATGAATGACATCGGCGACTACGT	GGGCTCCAACTGGAGATCTCTGGCTCCCAAC
166	UBE3A	4	15q11.2	TGGAGAAGCTGCACCAAGTGTATTGGA	AGTGAGCCACCAATTTGAATTTGCTAGCTCATGCTGCA
172	CREBBP	1	16p13.3	GCTGTTTTCGCGAGCAGGTGAAAA	TGGCTGAGAACTTCTGGAGCGGACGCCCAACCCCAAAAG
178	GNB1	3	01p36.33	GGTGGCATTGAAGAGCACTAAGATCGGAA	GATGAGTGAGCTTGACCGATTACGCGAGGCGCAGCAAC
184	MECP2	3	Xq28	CAAGCCTGCCTCTGCTCACTTGTCTGCA	GACTGGCATGTTCTGTGATACATACATCTGT
190	SEMA7A	11	15q24	TCCAGACCAAGAGCCGATACCCACAGAGA	CCTTCCAGGTGGCTGACCGTCAACCCAGAGGTGGCGCAGAG
196	CLDN5	1	22q11.21	CTCGTGCCACTCTGCTGGTTCGCAACATT	GTCGTCCGCGAGTTTTACGACCCGCTCTGTGCCG
202	MECP2	1	Xq28	CCAGCATCGCAAGGGTCCATTATCTCTTA	ACATTCAAATTCGCGCCCACTAAACAGCTCCCTCGG
208	GP1BB	2	22q11.21	CCTTCCCTGTGACACAACCGAGCT	GGTGTGACCGGCAACAACCTGACGGCGCTGCCG
214	MBD5	6	02q23.1	GACAAGGAAGGAGGTCTTCAGCTATACAA	GTTCTGTGGGTGGCAGCGCTGTGTGGATCAAAATGGAGTGC
220	PPIL2	20	22q11.21	GGAAGCGAGCAGCAGAGGAAGAGCCCTCA	ACCAGTGCACCTGTCCCATGTGCCAAGAAAGGCCAG
226	REL	7	02p16.1	CAAACTCCACCATATTGCAAAGCTATCAGACAACC	CGTAACAGTAAAAATGCAGTTGCGGAGACCTCTGACCAGG
232	LETM1	3	04p16.3	CACACTCCATCCACCCCTGTGTACACA	TCCTCCAGAGGCGATCACCTCGGCTGTGGGCTCTGAGGCC
238	PAFAH1B1	5	17p13.3	GGACCCAAAGAATGGAATCCCGTCCGCCAGAAAAATAT	GCATTGAGTGGTACAGGAGTCCAGTCACTCGAGTCATTTTCC
244	SNRPN	u1b*	15q11.2	CAAAATTCACAGTGGCGAGCTCACCAACCTGA	TGAAAGATACCAACAGGGTGAGAGCATCCCTAACAGCAAAAC
252	SHANK3	3	22q13.33	TGCAGTTTCGATACAAGCGGCGAGTT	TATGCCAGAACTCATCGATGATAAGCAAGTTTGAAGCTTC
260	NF1	45	17q11.2	TCTGCAACCAAGAGCTCTGTGTCTT	TGGGTGTATTAGCAAACGAGTGTCTCATGGGACAGATAAG
265	RTDR1	6	22q11.22	GTCTCGAGAGGGCAAGAAACAGGTGTGTCATTT	TGACGTATCCCATCTGTGTCATCTGCTGAAGAGCCAG
272	MAPT	15	17q21.31	CCTGGCGGAGATCGTGTAAGTCGCGAGTGGT	GTCGTGGGACACGTCTCCACGGCATCTCAAGCAATGTCT
278	LRRCA48	6	17p11.2	GGACCTGAGCTTGTCAACAACCGGATCTCCAAG	ATCGACTCCCTGGACGCCCTCGTCAAGCTGACGGTGT
283	SEMA5A	2	05p15.31	CTTTGAAGTGTGGTGTGTGAGACTGGGCTGGA	GTGCCACGCTGGCTGGGAGTCAAGTGTGATTCATGATTGA
292	DMD	55	Xp21.1	TCGAGAGGCTGCTTTGGAAGAACTCATAGAT	TACTGCAACAGTCCCGCTGGACCTGGAAGGTTTCTTGCCCTGG
300	SNRPN	3	15q11.2	CTCTAACCTGGTTTTGCTTGAATCAGATTCCTCGCTA	CTCCAAATATGGCTTAAACCACTCTGGGTCTCAGCTAAGAA
307	LLGL1	4	17p11.2	CTCCTGTCCCTGCTGTGACAGCAGTCTGCA	TCTCTGGGAGATTGTCCACCATTAATGGCTGTGCCACCTGGAA
315	ELN	33	07q11.23	CTAGGACCCCTGACTCAACGACCTCATCAACG	TTGGTGTACTGCTTGGTGGAGAATGAAACCCCTTTGTAACCC
323	PTCH1	12	09q22.32	CCAGCGCCCATGCCCTGCAGACCATGTTCCAGTAAAGACTCC	CAAGCAAATGTACGAGCACTTCAAGGGGTACGAGTATGTC
331	CYP11A1	2	15q24.1	CCCACCAAGAACTGCTTAGCTAGTCAACCTGAAT	AATAATTTGCGGGAGGTGGTGGCTGTGAAACCCAGCTG
339	NF1	17	17q11.2	CACCAAGTCAAAATGTCCATGGATCATGAAGA	ATTACTACGTACTCTGGAGCCCTCTCCGGAAGGGAAGGGG
346	KANSL1	9	17q21.31	GTTGGTCTGAACAAGCCTCCGCTTCTTACA	GCTCAGTACAGGACGTGTCCGGGCTGCCACACAGGTGC
355	DLG1	25	03q29	CAGTGATCATATTGGGACCTATGAAAGACA	GGATAAATGATGATCTGATCTCAGAAATTCCTGACAAATTTGG
364	ELN	20	07q11.23	GCTGGGGGCTTTCCCGGCTTT	GGTGTGCGAGTCGGAGGTATCCCTGGAGTCGAGGTGTC
373	SNAP29	3	22q11.21	CAAATGTGGCTGTGCACACAGGTATCCACTTAC	CTGTATCATCCAGCTTTCTAAGGTTTGGGTGGCTGGCCTGGTACTT
382	RABL2B	9	22q13.33	GGCCTAGCTATAGTTAGGAATACACAAGCC	GTAATAATCGAGTCTTACAGCCATACCAAGGTACGTCCATTGG
391	SATB2	6	02q33.1	GCTCTCTGAATATGACAACAGAGAAGAACAC	GCCGAGTTTGTCTGTGCGGAAAGATGTGCTTTTATGCCAGCT
401	TRPS1	1	08q23.3	CCTGCAATCTCTAGCTCCTCTTTTGGT	GCTGCTGGTTTCTCCAGACCTCGCGCTCTCGATTGC
411	MBD5	15	02q23.1	CCATTAGTGGAGTAGTCTCTGTATCTGAGATCTTC	CTCCTCTGGGTTTGGGGGTCTCATTTGTCTGTCAACCT
422	DLG1	3	03q29	CCACCAAACTGAAGACAGACAGCTCAGAAGT	TCCATAGAACGGGTATTAACATATTTACAGAGCAACCTTTTCAG
429	EXT1	2	08q24.11	CCTTAGCTATCCAGGAGAGGTGATAATGTT	AAACCCACTTAATCTGGCTTCGGTCTCAGCCCTATCTCG
436	FANCC	15	09q22.32	CGGCTCACACTGCTGAGATAACTCAOGA	GATCATTTGGCTTCTTGACGAGACCTGTACAGATGGAATCGT
445	TERT	3	05p15.33	CCGTGTACGTGTCGAGCTGCTCAGTCTTTCTTTAT	GTACGAGAGACCAAGTTTCAAAAGAACAGGCTTTTCTTACC
454	WHSC1	3	04p16.3	CTTCTGGACACTTGTGGGACGACGAGGTGGCATTAT	TTTCCCTTAATGCTTGTGATTGATTGACAGACAGTCTTGCTCTG
462	NSD1	22	05q35.3	CACAACCTAGAATGTCTTGGGAATGAAAGACTGTT	TGCAAAATGGAGGCCCGAACTGCAGTGGCTTCTTGG
471	RAI1	2	17p11.2	CGTGGAGCGCTCACATTTGTTCTCCCAAGGATCTCA	TCTGCCACCGCGTCTGGAAGAGCGAGAGGGA
485	SATB2	12	02q33.1	GCCAACATCAACATCACAGCTGCCATTTATGA	CGAGATCCAACAGGAGATGAAAAGGCCAAGGTGTCTCAA
499	PEX13	3	02p16.1	TGACAGCATCAACTGGGCAAGTGTGAGGATGACCA	TGTAGTTGCCAGCAGAGAAATGATTTTGTCCGTATCTGAAGAA

MIX DE SONDAS P286					
Longitud del fragmento	Gen	Exón	Posición Cromosómica	LPO	RPO
130	CACNA1B	47	09q34.3	TGGCTCTCGAATTGGCTCTGACCCCTT	ACCTGGGGCAGCGTCTGGACAGTGAGGCGCTCTGTCCAC
136	DPYSL4	11	10q26.3	TGGGCTCTGACGCTGACCTGGTCATA	TGGAACCCCAAGGCCACCAAGATCATCTCTGCCAA
142	B3GAT1	2	11q25	TGAGGAGCCGTGGGTGCAGCCAGCGTT	GGAGATGCCGAAGAGACGGGACATCCTAGCGATGTCCTCATC
147	P2RX2	8	12q24.33	TGTGACCTGGACCTGCCATCGGAG	TGCAACCCCAAGTACTCCTCCGGAGGCTTGACCCCA
154	DPP7	7	09q34.3	TGCGTGGAAGGGGCAGAGACTTGA	AGTTTGGGCATAGCTGGCGCTGGGGCGGGTCAGGCAG
160	INPP5A	10	10q26.3	TCTGGGACTTATCTCCGTTGCTGTCTT	TCTGCAGACGCTCTGCACAAAAGCCACCATCGACAGC
168	OPCML	7	11q25	TACTTGTGTGGCCAGCAACAGCTGGGA	ACACCAATGCCAGCATCATTGTATGGTAGTGCTGG
172	GALNT9	7	12q24.33	TTGTGGATGGATGACTTCAAGTCCCACGTG	TACATGGCTGGAAACATCCCATGTGGTAGTCCCCACA
178	NOTCH1		09q34.3	CACCTGCCTGAATGGCGGGAAGTGTA	AGCGGCCAATGGCACGGAGGCCCTGCGTGTGA
184	GLRX3	10	10q26.3	GGTGGGAGGATTGGATATTGTGAAGGTA	AGGCCAGTTCTTCTGCTGTTCTAAAGAACGGAAAAGATTTTGGT
190	NFRKB		11q24.3	TGTTGTCAGCCTCTCAACATGGCAGGA	AGTGTTAAGTATTCTCAACGTGAACACCTCCAGCATTTCTG
196	MGMT	4	10q26.3	CGAGTCCGTTACCCAGACAGGTGTTATGGAA	GCTGCTGAAGGTTGTGAAAATCGGAGAAGTGATTCTTACCAG
202	ULK1	27	12q24.33	TGTGCAGTCGCGTCCCTGGACGAGATGTT	CCAGCACCGGTGAGGCGCTGCGTCCACGCTACCACA
207	EHMT1	6	09q34.3	GTTTGTTTATGATGCGCATGATCCTGCCT	TGGGGTATACACCTGCCGCTGTTCTAGGGGAGAAAGG
215	COL5A1	38	09q34.3	TGGCGTGGTCGGCCCTCAGGTA	AGCTCCAGCCTTCCAGATTCCATGGGTCAC
220	PIWIL1	21	12q24.33	GTTGGCCAGAGTATTCACAGAGAGCCAAA	TCTGTCACTGTCAAAACCGCTTTACTACCTCTAACCTGCAG
226	INPP5A	15	10q26.3	CCATGCCCGGGGACAGGTAACCTCATGCCCATGTGCA	CAAGTGTTGTGCTGTCAGTGACGTGGTGGTAAATATGACT
232	VENTX	1	10q26.3	GAGAGGAAATCCCGTCAAGGCTT	TGGTTCGAGGGGAAGCTGCGCTCCAGTGAGGGCGCCG
238	CYP2E1	6	10q26.3	CCAAAGCAGATGCAGAGCGCTTGATACACA	ATGAGCGGTATCACCGTGACTGTGGCCGACCTGTTCT
244	SNX19	1	11q25	TGAAACAGTGCCACCGTTCAGGAA	ACTCCAGCTGGATCGAGCTGTCACTCTCAATAAAGCTGT
250	PAOX	6	10q26.3	GCTCCTGACACACTCTGCTGCTCACTT	TTCTTCGTCATAGCATCTTTCACGTAAAGTCTCAATCTTAAAAATGAC
256	NELF	13	09q34.3	GGGAGGTCTGGACACCTCTATCTCCTCAAGA	ACAAGGTGGCCACCTTTGCCAAGTGGGAGAAGGA
262	SFRS8	15	12q24.33	GAGACGGAGGGAAGAGAGGAGTG	TGCCCACTGCCTACCGCGTGAGCCGACCGCTGG
266	CEL	7	09q34.2	TCAGGTGGCTGAGAAAGTGGTTGCCCT	GTGGGTGATGCCGCCAGGATGGCCAGTGTCGTAAGG
274	ZNF10	1	12q24.33	TGGAGATAACGGCTGCACCTGGAGA	TTGACGCAGAGTGGGCGGGGTGCTGGTGAAGTTTGAACACAG
282	MIR126		09q34.3	CTTGGAGGGGTGCTGGCGGGCCGCGCTCA	GAGGCGCGTTTGCCTGAGCCCCGGGTCCAG
291	LOC399829	1	10q26.3	CAGCATTACATTACAACTGATGAACGTAGCT	TCATCTTTCTCCTGAAAGTTCCAGCCCTCTAAGTCTCTGTCC
296	LHX3	3	09q34.3	CTTCATCTCAAGGCTCTGGACCGCCACTGGCACA	GCAAGTGTCTCAAGTGCAGCGACTGCCACACGCCACT
302	SPATA19	5	11q25	TCCACACTCGTATCTTCCAAGTGCCAAGTG	AGATGACAGGAGACATATGCGAGATGGAATAGAGCAGGTG
310	UBAC1	2	09q34.3	CTGCCCTCAGAGAGGGTCTGAGT	GATGCCAGGACCATCTGGAAGAGAATCCAGGACCA
319	TSC1	18	09q34.13	CCAATCAGCTCCAGGAGCAGCGTGACACT	ATGGTAACCAAGCTCCACAGCCAGATCAGACAGCTGCAGC
328	APLP2	18	11q24.3	CTCACCCAGAGAAGAGCGTCACTGAA	CAAGATGCAGAACCATGGCTATGAGAACCCCACTACA
337	TCERG1L	3	10q26.3	CAGAGACACAGCTACTTGATTGCCAGCAA	ACGAGGCTTTTCATGCCCATGGA AAAACCTTGACTCTCTCA
344	HNT	6	11q25	CACCATACATTTCAGAAAGCCAAGGTACAG	GTGTCCCGTGGGACAAAAGGGGACACTGCAGTGTA
353	EHMT1	16	09q34.3	TAGAAGACCAAGGACCCCGTTGA	TGGAAGCAGCCGAAAACCACTCTGGAAGCAGTGAAGTA
362	C11ORF39		11q25	TTTCATCTGCAAGCATCTGTCTTTTACAG	ACCTGCTTCTACAGAAAACCTCATTTTGCAGCACCTTGAGGC
375	CYP2E1	5	10q26.3	CTCTGAAAGGGTGAAGGAGCACCATCA	ATCTCTGGACCCCACTGTCCCGGGACCTCACCGACTGCC
386	NCAPD3	2	11q25	CACAAAGGAACCTCGTGGGCAATCTGA	TTAACCTCTGTTTCTCTAGATTGAACATGTGGGAAAGCCTGATCACT
393	CHFR	4	12q24.33	CCGGTTGTTAAGAACGACAGATGCCCTTT	ACAGACTGGGGATGTCTACTTGTGTACAGGAAGAATGAA
400	OLFM1	1	09q34.3	CCACAAAGGGCTATGCCGTGTGCTTA	TTGAGACACCTTGCAAAAGAGATGGCTGATTCCTGGGTG
410	PTPRE	12	10q26.3	CCGACCAAGGCTGCTGGACCTATGGA	AACATCCGGGTGTGCGTGGAGGACTGCGTGGTTTTGGT
418	ADAMTS15	8	11q25	CCAAGGCAAGTACCTGCTCAACGGGCATT	TCGTGGTGTGCGCGGTGGAGCGGGACCTGGTGGTGAAG
427	FLI1		11q24.3	CTCAACAACCTGTGACGGAAGCAAGGAGAGATT	ACATATCCTGGGCAAGTACCTGGCTGGGGCCGTTGCTCT
436	TRAF2	10	09q34.3	CGGCTACAAGATGTGTCTCGGTATCT	ACCTGAACGGCGACGGCACCGGGCGAGGAACA
445	OPCML	2	11q25	CCTGGCCCAACAAAGGTGATATCCCTGT	TCCCATAGCTCCTAAATCATCAGCCACTCCCACTAAAGAATATCAGTCCA
454	SLC15A4	2	12q24.33	CAGCAGAACGTCAGCTTTTGCTACTGGT	TATGGATCCCACTGCTGCTGCGTGGGCTTCTTTTGTGG
463	JAM3	7	11q25	GCTGATCAGTGGGCATCTGCTGTGCAT	ACAGACGTGGCTACTTTCATCAACAATAAACAGGATGGAGAAAGG
472	ZNF10	5	12q24.33	CCTTACTCAGGAGAGAGTCTGAAAGTGGTAA	ATATGGGGAAACTGTCTTCTCTGCTCAGCTAGTACTGAGAG
481	BNIP3	5	10q26.3	CCTAAGAAGCCCTGCTTTGACTCCGTTTAT	ATTGAGTGAGCAACAGGCAGACTCGTCAGGCCAGACAGCAGCA
490	CHFR		12q24.33	CCTGGTATCTCCAGTGTCACTGACCTGAT	TTTTCATCCACTACAAATCTACAGTGATCTCCAGAGACCACTT

### ANEXO 3

Resumen de los resultados reportados por diferentes autores al evaluar alteraciones subteloméricas.

Autor	Año	País	Técnica	Sonda utilizada	# de Individuos Analizados	% de Individuos con Alteraciones Subteloméricas	Algunas Alteraciones Reportadas
Koolen	2004		MLPA	P036	210	6.70%	del 10qter
Northrop	2005		MLPA	P036 y P070	50		dup 10p
Kirchhoff	2005		MLPA	P036	258		dup 10q26
Rooms	2005		MLPA	P019, P020, P036, P069 y P070	275	4.36%	del 18qter + dup 10pter
Ravnan	2006		FISH		11688	3.03%	del 9pter, del 9qter, del 10p, del 10q, del 10pter + dup 7qter, del 10pter + dup 16pter, del 10qter + dup 1pter, del 10qter + dup 4pter, del 10qter + dup 4qter, del 10qter + dup 8qter, del 10qter + dup 10pter, del 10qter + dup 17qter, del 10qter + dup 21qter.
Palomares	2006		MLPA, FISH		50	10%	del 9qter, del 2qter + dup 10qter.
Erjavec-Skerget	2006		FISH, MLPA, CGH		100	6%	dup 10q26.13 + del 11q24.2
Damien	2006		MLPA	MLPA	78 (abortos espontaneos)		dup 15q
Wook	2007		FISH, MLPA	P036B y P069	463	5.90%	del 9qter + dup 15qter, del 9pter + dup 15qter.
Wu	2010	China	MLPA	P036B y P070	451	7.54%	del 9p24.3, del 9p24.3-24.1, del 10pter + dup 6qter, del 10p15.3-15.1 + dup 6q27.
Behjati	2013	Iran	MLPA	P036 y P070	100		del 10q + dup 6p